



**Universidade de Brasília - UnB
Faculdade UnB Gama - FGA
Engenharia de Energia**

**DESENVOLVIMENTO DE NOVAS METODOLOGIAS
PARA O PRÉ-TRATAMENTO E HIDRÓLISE DO
BAGAÇO DE CANA PARA A PRODUÇÃO DE
ETANOL CELULÓSICO**

**Autor: Vitor Magalini Zago de Sousa
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sandra Maria da Luz**

**Brasília, DF
2014**



VITOR MAGALINI ZAGO DE SOUSA

**DESENVOLVIMENTO DE NOVAS METODOLOGIAS PARA O PRÉ-
TRATAMENTO E HIDRÓLISE DO BAGAÇO DE CANA PARA A PRODUÇÃO DE
ETANOL CELULÓSICO**

Monografia submetida ao curso de graduação em Engenharia de Energia da Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia de Energia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sandra Maria da Luz

**Brasília, DF
2014**

CIP – Catalogação Internacional da Publicação*

Sousa, Vitor Magalini Zago de.

Desenvolvimento de novas metodologias para o pré-tratamento e hidrólise do bagaço de cana para a produção de etanol celulósico / Vitor Magalini Zago de Sousa. Brasília: UnB, 2014. 56p. : il. ; 29,5 cm.

Monografia (Graduação) – Universidade de Brasília
Faculdade do Gama, Brasília, 2014. Orientação: Sandra Maria da Luz.

1. Pré-tratamento. 2. Hidrólise. 3. Bagaço de cana-de-açúcar 4. Materiais lignocelulósicos I. Luz, Sandra Maria da. II. Dr^a.

CDU Classificação



**DESENVOLVIMENTO DE NOVAS METODOLOGIAS PARA O PRÉ-
TRATAMENTO E HIDRÓLISE DO BAGAÇO DE CANA PARA OBTENÇÃO DE
ETANOL CELULÓSICO**

Vitor Magalini Zago de Sousa

Monografia submetida como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Engenharia de Energia da Faculdade UnB Gama - FGA, da Universidade de Brasília, em 24/06/2014, apresentada e aprovada pela banca examinadora abaixo assinada:

Prof^a. Dr^a. Sandra Maria da Luz, UnB/ FGA
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Andreia Alves Costa, UnB/ FGA
Membro Interno Convidado

Dr. Felix Gonçalves de Siqueira, Embrapa Agroenergia
Membro Externo Convidado

Brasília, DF
2014

À minha família.

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos...

A Deus, pela vida.

Aos meus pais, Renato e Doralice, pela dedicação e esforço em todos esses anos.

À minha irmã, Carla, pela infinita paciência e solicitude.

À minha orientadora, Sandra, pelo carinho, disposição e paciência para me guiar no caminho certo.

À minha namorada, Janaíne, que me apoiou sempre e ajudou nos momentos mais difíceis.

Aos meus queridos amigos, especialmente Edilberto, João Luiz, Matheus, Vitor e Wagner, que sempre me apoiaram e me deram forças.

RESUMO

O bagaço de cana-de-açúcar é considerado uma biomassa vegetal com um enorme potencial energético. A indústria sucroalcooleira aproveita essa biomassa para a geração de energia elétrica dentro da própria usina. Esse resíduo, porém, possui um potencial para a produção de etanol de segunda geração, ou também chamado etanol celulósico. Este trabalho tem como objetivo estudar diferentes sequências de tratamento do bagaço de cana para a extração de açúcares fermentáveis, utilizando o pré-tratamento alcalino com hidróxido de sódio (NaOH) e a hidrólise ácida com ácido sulfúrico (H_2SO_4), em diferentes concentrações. O pré-tratamento alcalino adotado utilizou três concentrações distintas: 1, 10 e 20 % m/v. A hidrólise ácida foi feita com duas concentrações distintas: 0,07% m/v e 55,2% m/v. O pré-tratamento alcalino mostrou-se eficaz na remoção de impedimentos estruturais à hidrólise e também na remoção de parte da lignina. A hidrólise com ácido concentrado mostrou-se a mais promissora quando realizada em bagaço tratado com NaOH 10%, apresentando 8,62% de glicose, 3,68% de xilose e 3,13% de arabinose do bagaço pré-tratado utilizado. A hidrólise com ácido diluído mostrou-se a mais promissora quando realizada em bagaço tratado com NaOH 1%, resultando em 13,42% de glicose, 4,46% de xilose e 1,27% de arabinose do bagaço pré-tratado utilizado. O estudo das sequências apresentou resultados satisfatórios, na qual apenas alguns ajustes na metodologia de cada etapa devem ser feitas a fim de alcançar maiores rendimentos.

Palavras-chave: Pré-tratamento, Hidrólise, Bagaço de cana-de-açúcar, Materiais lignocelulósicos.

ABSTRACT

Sugarcane bagasse is considered a biomass with huge energy potential. The ethanol industry uses it for power generation within the plant itself. This residue, however, has a potential for the production of second generation ethanol, or also called cellulosic ethanol. This work aims to study different treatment sequences of sugarcane bagasse to extract fermentable sugars, using an alkaline pre-treatment with sodium hydroxide (NaOH) and acid hydrolysis with sulfuric acid (H_2SO_4), at different concentrations. The alkaline pre-treatment was performed at three different concentrations: 1, 10 and 20% w/v. Acid hydrolysis was performed with two different concentrations: 0,07% w/v and 55,2% w/v. The alkaline pre-treatment was effective in the removal of structural impediments to hydrolysis and also in the removal of the lignin. The concentrated acid hydrolysis proved to be promising when performed in the treated pulp with NaOH 10%, showing glucose, xylose and arabinose yields of pretreated bagasse, respectively, 8,62%, 3,68% and 3,13%. The diluted acid hydrolysis proved to be the most promising method when performed in the treated pulp with NaOH 1%, showing glucose, xylose and arabinose yields of pretreated bagasse, respectively, 13,42%, 4,46% and 1,27%. The study of the sequences showed satisfactory results, just a few modifications in the methodology of each step must be made to achieve higher yields.

Keywords: Pre-treatment, Hydrolysis, Sugarcane bagasse, Lignocellulosic materials.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Disposição dos componentes da parede celular da célula vegetal.....	2
Figura 2 - Representação de um material lignocelulósico e seus componentes.....	3
Figura 3 - Esquema da estrutura da cadeia celulósica.....	10
Figura 4 - Estrutura de alguns compostos que constituem a hemicelulose.....	11
Figura 5 - Efeito dos pré-tratamentos químicos nos materiais lignocelulósicos	13
Figura 6 - Mecanismo de hidrólise ácida da celulose.....	18
Figura 7 - Fórmula estrutural do furfural.....	19
Figura 8 - Fórmula estrutural do HMF	20
Figura 9 - Fluxograma geral do processo de extração de açúcares solúveis do bagaço de cana.....	21
Figura 10 - Fluxograma detalhado da sequência de tratamento proposta.	22
Figura 11 - Percentuais de açúcares hidrolisados com AC do bagaço de cana pré- tratado em relação ao bagaço de cana <i>in natura</i>	33
Figura 12 - Percentuais de açúcares hidrolisados com AD do bagaço de cana pré- tratado em relação ao bagaço de cana <i>in natura</i>	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química de alguns materiais lignocelulósicos (base seca)	8
Tabela 2 - Composição química do bagaço de cana-de-açúcar reportada na literatura por diversos autores.....	9
Tabela 3 - Classificação de alguns métodos de pré-tratamento da biomassa	14
Tabela 4 - Caracterização química do bagaço de cana-de-açúcar <i>in natura</i> fornecido pela Edra Ecosystemas, em base seca.....	23
Tabela 5 - Massa de bagaço antes e depois do pré-tratamento (polpas).	26
Tabela 6 - Composição do bagaço de cana, em base seca.....	29
Tabela 7 - Massas de polpas pré-tratadas que foram submetidas à metodologia de hidrólise AC.	30
Tabela 8 - Massas de polpas pré-tratadas que foram submetidas à metodologia de hidrólise AD.	30
Tabela 9 - Compostos obtidos a partir da metodologia AC, pré-tratados com NaOH 1% m/v.	31
Tabela 10 - Compostos obtidos a partir da metodologia AC, pré-tratados com NaOH 10% m/v.	31
Tabela 11 - Compostos obtidos a partir da metodologia AC, pré-tratados com NaOH 20% m/v.	32
Tabela 12- Compostos obtidos a partir da metodologia AD, pré-tratados com NaOH 1% m/v.	35
Tabela 13 - Compostos obtidos a partir da metodologia AD, pré-tratados com NaOH 10% m/v.	35
Tabela 14 - Compostos obtidos a partir da metodologia AD, pré-tratados com NaOH 20% m/v.	36
Tabela 15- Áreas associadas aos picos obtidos nos cromatogramas das amostras de hidrólise AC.	38
Tabela 16 - Áreas associadas aos picos obtidos nos cromatogramas das amostras de hidrólise AD.	39

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. MOTIVAÇÃO	1
1.2. OBJETIVOS	4
2. REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1. BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR	5
2.2. BAGAÇO DE CANA: ENERGIA OU ETANOL?	6
2.3. CARACTERÍSTICAS DOS MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS	7
2.4. CELULOSE	9
2.5. HEMICELULOSE	10
2.6. LIGNINA.....	12
2.7. PRÉ-TRATAMENTOS DE BIOMASSA.....	12
2.8. HIDRÓLISE.....	16
2.8.1. Hidrólise ácida	17
2.9. PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO	18
2.9.1. Furfural	19
2.9.2. Hidroximetilfurfural	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1. MATERIAIS.....	22
3.2. PRÉ-TRATAMENTO.....	23
3.3. HIDRÓLISE.....	23
3.4. ANÁLISE DOS AÇÚCARES POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	25
4. ANÁLISE DOS RESULTADOS	26
4.1. ETAPA DE PRÉ-TRATAMENTO	26
4.2. ETAPA DE HIDRÓLISE	28
4.3. AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS NÃO IDENTIFICADOS	38
5. CONCLUSÃO	41
6. PROPOSTAS PARA MELHORIA DO TRABALHO	42
7. REFERÊNCIAS	43

1. INTRODUÇÃO

1.1. MOTIVAÇÃO

Atualmente, a procura por novas fontes de energia está bem direcionada ao estudo da energia proveniente da biomassa. Hoje, esse tipo de energia vem sendo utilizada em diversos segmentos da indústria, notadamente a indústria dos combustíveis. Nos últimos anos, a produção de etanol tem aumentado significativamente, pois ele é considerado o mais promissor biocombustível de fonte renovável (DIAS *et al.*, 2012). A maior parte da produção do etanol, no Brasil, está baseada na fermentação direta do caldo de cana. No Brasil, a indústria do etanol é muito forte, sendo ele parte do combustível utilizado nos carros de todos os brasileiros, e indiscutivelmente é o combustível que mais tem estudos relacionados na literatura.

O bagaço de cana surge, neste contexto, como um resíduo ou co-produto que é aproveitado, na maioria das vezes, como combustível para as caldeiras de vapor, dentro da própria usina devido ao seu alto potencial energético (PITARELO, 2007). O bagaço de cana-de-açúcar é considerado um material lignocelulósico com um grande potencial a ser aproveitado pelo homem (BETANCUR e PEREIRA JR., 2010). Deseja-se, com a utilização do bagaço para produção de etanol celulósico, que os componentes que o constituem sejam reaproveitados de uma melhor forma, tanto econômica quanto ambientalmente (MILEO, 2011).

Esse bagaço, porém, tem um potencial para a produção de etanol proveniente da celulose da fibra vegetal (DIAS *et al.*, 2011). A fibra vegetal é composta por diversos constituintes. Em particular, é na parede celular das células das fibras que se encontram os compostos desejados: a celulose, a hemicelulose e a lignina. Os dois primeiros são, de fato, os compostos que, se tratados, são utilizados na obtenção dos carboidratos para a fermentação (PALMQVIST e HAHN-HÄGERDAL, 2000a). Já o último é um composto que apresenta um importante papel no desenvolvimento das plantas, contribui com força mecânica e as protege contra o ataque de insetos e fungos, além de dificultar o acesso aos carboidratos (KUMAR *et al.*, 2009). A Fig.(1) mostra a disposição desses três componentes da parede celular da célula da fibra vegetal, formando uma estrutura lignocelulósica.

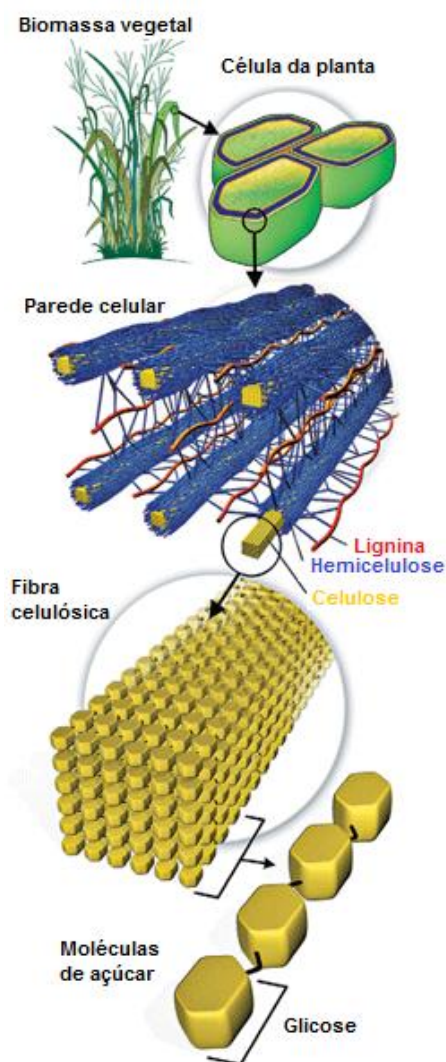


Figura 1 - Disposição dos componentes da parede celular da célula vegetal (adaptado de US DOE, 2007).

É possível perceber pela Fig. (1) que a ligação entre os constituintes da biomassa vegetal é muito forte. Os principais desafios da produção de etanol celulósico são o custo elevado envolvido nas etapas do processo como o pré-tratamento da biomassa e a hidrólise da celulose e a questão de produção de energia elétrica x produção de etanol celulósico (DIAS *et al.*, 2011). O pré-tratamento da biomassa é uma das etapas necessárias para o processo de obtenção dos açúcares a partir do material lignocelulósico.

Atualmente, há diversos estudos e métodos desenvolvidos relacionados ao pré-tratamento da biomassa (ZHENG, PAN e ZHANG, 2009). Um dos objetivos centrais dos pré-tratamentos é a remoção da lignina, um componente indesejado para a obtenção dos açúcares fermentescíveis. Primeiramente, para acessar os

açúcares é necessário remover ou quebrar parte da lignina. Com a lignina quebrada ou removida, é necessário converter as cadeias de carboidratos completos, como a celulose e hemicelulose, em açúcares solúveis (ALVIRA *et al.*, 2010). No caso do material lignocelulósico, a celulose e hemicelulose são quebradas, a primeira em glicose majoritariamente e a segunda em xilose e arabinose, majoritariamente (KUMAR *et al.*, 2009). A Fig.(2) mostra as regiões da fibra onde se localizam a hemicelulose e a celulose, a região cristalina (cadeia sem ramificações, cuja cadeia é formada por cristais de celulose) e amorfa (cadeia com ramificações) da celulose e também a estrutura das microfibras da parede celular das plantas.

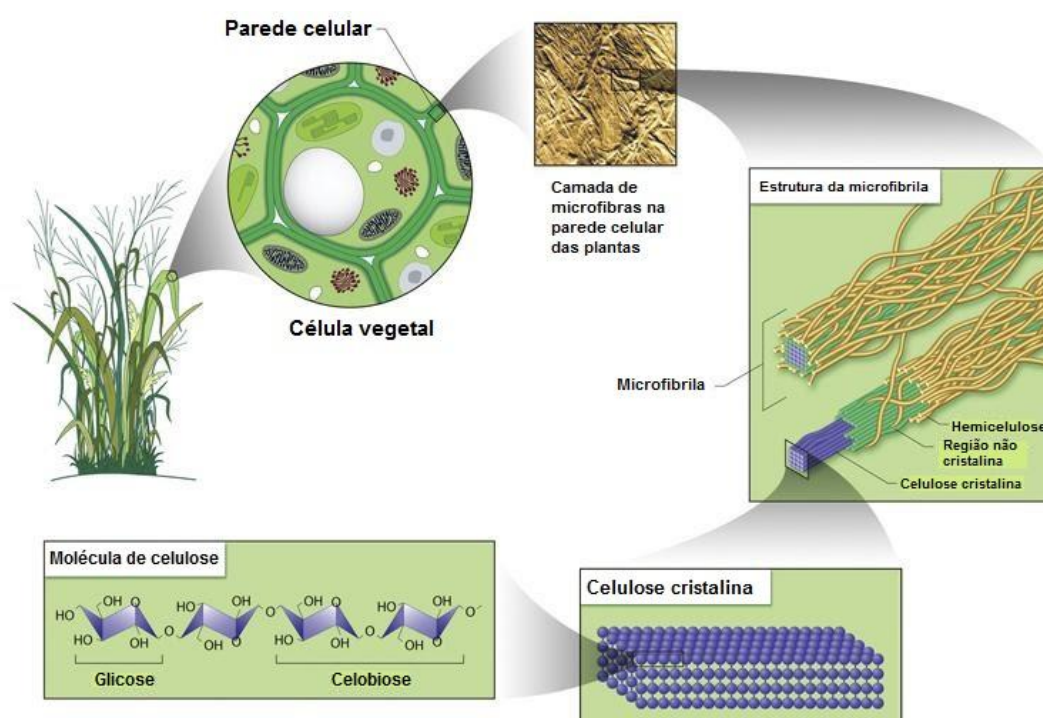


Figura 2 - Representação de um material lignocelulósico e seus componentes (adaptado de US DOE, 2007).

Para conversão dos carboidratos em açúcares, a biomassa pré-tratada é submetida à hidrólise ácida, uma metodologia bastante antiga e difundida pelos estudiosos da biomassa vegetal, por ser uma metodologia barata e relativamente simples de se aplicar (SUN e CHENG, 2002). O ácido sulfúrico é considerado, hoje, uma *commodity* no mercado internacional (ZELEZNIK, 1991), portanto a sua utilização é muito ampla na hidrólise dos materiais lignocelulósicos.

1.2.OBJETIVOS

O objetivo principal do presente trabalho é quantificar os açúcares obtidos na sequência de pré-tratamento alcalino com hidróxido de sódio e hidrólise ácida com ácido sulfúrico em diferentes concentrações a fim de verificar qual delas obteve o maior rendimento em açúcares solúveis. A partir dos resultados, analisar e elucidar os números obtidos.

Os objetivos específicos do estudo são:

- Avaliar o pré-tratamento alcalino como etapa para obtenção de açúcares solúveis a partir do bagaço de cana;
- Avaliar a hidrólise ácida como forma de quebra da cadeia celulósica para obtenção de açúcares solúveis;
- Avaliar a combinação das duas metodologias como uma sequência aplicável ao tratamento do bagaço para a produção de açúcares fermentescíveis.

2. REVISÃO DA LITERATURA

A seguir, serão abordados alguns aspectos importantes no entendimento do contexto do bagaço de cana-de-açúcar e seus constituintes para produção do etanol celulósico.

2.1. BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

A cana-de-açúcar é um dos principais produtos agrícolas do Brasil e é utilizada principalmente na produção de etanol e açúcar. O Brasil é líder mundial na produção de cana, etanol e açúcar, com 589,2 milhões de toneladas, 23,4 milhões de m³ e 38,3 milhões de toneladas, respectivamente, dados da safra 2012/2013 (BRASIL, 2013). A liderança do Brasil na área de produção de cana-de-açúcar consolidou-se devido às significativas reduções de custos de produção (CORTEZ, 2010), principalmente após o Programa Nacional do Álcool - Proálcool, decorrentes de ganhos de produtividade e eficiências agrícolas e industriais. Isso tornou o país uma grande referência no cenário internacional como grande produtor de combustível de fonte renovável.

A produção de etanol, hoje, é o principal objetivo da plantação da cana-de-açúcar. Porém, o bagaço da cana é um resíduo que aparece com expressividade na produção do etanol. Segundo dados da CONAB (2011), a estimativa do total de bagaço gerado na moagem da cana é cerca de 186 milhões de toneladas, número muito expressivo. O bagaço, quase que em sua totalidade, é utilizado para gerar eletricidade dentro das próprias usinas de processamento da cana, sendo que ele é queimado para geração de vapor em termoeletricas (DIAS *et al.*, 2011). Para a produção do etanol, a cana é moída, seu caldo é extraído e o bagaço gerado fica armazenado para a produção de vapor e, conseqüentemente, energia elétrica. Já na produção de açúcar, a cana passa por uma série de etapas, em que estão presentes a moagem, produção e sacarificação do melaço. Nos dois processos, o bagaço de cana é um resíduo (SOCCOL *et al.*, 2010).

As usinas de processamento da cana, em sua grande maioria, são autossuficientes em termos energéticos, devido à grande quantidade de bagaço produzido e utilizado como fonte de energia para produção de eletricidade e vapor. Porém, além dessa finalidade, pode-se produzir etanol a partir dos açúcares provenientes da quebra da cadeia celulósica existente na parede celular da fibra. Atenta-se para o fato de que a usina não pode utilizar todo o bagaço disponível para

a produção de etanol celulósico, visto que sua total utilização causaria um déficit de energia dentro da usina, levando a mesma a ter que comprar energia da rede, diminuindo sua receita bruta. Logo, parte do bagaço produzido tem destino certo, ou seja, a produção de energia elétrica. Entretanto, se houver um melhor aproveitamento energético das caldeiras aumentando sua eficiência, o bagaço poderia ser então destinado à produção de etanol celulósico na própria indústria, sem afetar a produção de energia elétrica, essencial para a usina (PANDEY *et al.*, 2000).

Os resíduos provenientes da produção do etanol e do açúcar (bagaço de cana) e também de outros resíduos agroindustriais (biomassa residual) são basicamente compostos por três componentes macromoleculares: celulose, lignina e hemicelulose (polioses) (LUZ, 2008). Cada componente macromolecular desses apresenta utilidades diferentes devido às suas características próprias: a lignina pode ser utilizada como *pellets* para geração de energia (LURII, 2008), a hemicelulose pode ser utilizada para a produção de xilitol (ALVES *et al.*, 1998) e a celulose pode ser utilizada para a produção de etanol de segunda geração, a partir dos monômeros da cadeia celulósica (glicose).

2.2. BAGAÇO DE CANA: ENERGIA OU ETANOL?

A produção de etanol celulósico esbarra em uma grande questão nos dias de hoje: utilizar o bagaço para produzir etanol ou utilizá-lo para a produção de energia elétrica? Ultimamente esse tem sido o grande entrave da indústria do etanol de segunda geração (2G). O bagaço hoje é utilizado, quase integralmente, para a produção de energia elétrica nas usinas, quando estas não dispõem de unidades de produção de bioetanol. Há diversos estudos descritos na literatura que buscam dar uma resposta a essa pergunta.

Dias *et al.* (2011) estudaram em seu trabalho se a produção de etanol 2G pode competir com a produção de energia elétrica. O trabalho faz simulações com a variação de diversos parâmetros como o preço de insumos e também algumas alterações nas variáveis do processo como o aumento de pressão nas caldeiras de vapor. Porém, a premissa de todas as simulações é a avaliação do preço de cada um no momento. Os resultados das análises desses autores mostraram que a produção de energia elétrica é mais vantajosa caso apenas o bagaço fosse utilizado

para a produção de etanol celulósico. Porém, se, além do bagaço, fossem utilizados resíduos do bagaço (palha) na produção de etanol e o processo fosse otimizado e aperfeiçoado, esta seria economicamente mais viável que a produção de energia elétrica. Ainda assim, segundo os autores, caso a planta de segunda geração fosse integrada à de primeira geração, o custo de produção do etanol diminuiria.

Já Seabra e Macedo (2011) estudaram essa questão por uma ótica diferente. Além de uma avaliação econômica e técnica, os autores também estudaram os impactos ambientais inerentes a cada processo, do ponto de vista da avaliação de ciclo de vida. Seus resultados mostraram que, hoje, apenas a produção de energia elétrica é economicamente atraente para a indústria do etanol, enquanto que do ponto de vista ambiental, a produção de etanol de segunda geração via enzimática é a opção mais atraente.

Sendo assim, com o avanço das pesquisas em pré-tratamento e hidrólise dos materiais lignocelulósicos, a produção industrial do etanol poderá ser viabilizada em breve, sendo mais vantajoso que a produção de energia elétrica.

2.3. CARACTERÍSTICAS DOS MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

Os materiais lignocelulósicos provenientes da extração vegetal e exploração agrícola constituem a biomassa e os complexos orgânicos de carbono (SANTOS e GOUVEIA, 2009) mais abundantes disponíveis na Terra. Eles apresentam vital importância como fonte de energia renovável num contexto do crescimento dos problemas ambientais (MILEO, 2011).

Esses materiais são constituídos de fibras elementares de celulose envolvidas em uma matriz amorfa composta de polioses (hemicelulose) e lignina. Essa matriz no qual a fibra celulósica está envolvida (lignina) constitui uma barreira para o ataque de microrganismos e enzimas, tornando um material pouco reativo e bastante rígido. A proporção de cada constituinte da biomassa vegetal varia de espécie para espécie, conforme é mostrado na Tab.(1).

Tabela 1 - Composição química de alguns materiais lignocelulósicos (base seca) (SILVA, 2010).

Material lignocelulósico	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)
Farelo de cevada	23,0	32,7	24,4
Sabugo de milho	31,7	34,7	20,3
Folhas de milho	37,6	34,5	12,6
Bagaço de cana	40,2	26,4	25,2
Palha de arroz	43,5	22,0	17,2
Palha de trigo	33,8	31,8	20,1
Palha de sorgo	34,0	44,0	20,0
Casca de aveia	30,5	28,6	23,1
<i>Eucalyptus grandis</i>	40,2	15,7	26,9
<i>Eucalyptus globulus</i>	46,3	17,1	22,9

Observando a Tab.(1), percebe-se que o bagaço de cana é uma das biomassas residuais que mais dispõe de celulose e hemicelulose. Isso também justifica o fato de se utilizá-la para a produção de etanol de segunda geração. A produção de etanol celulósico também esbarra na quantidade de bagaço utilizada para a conversão em etanol, o que pode fazer com que diminua o combustível das unidades de produção de vapor e energia elétrica, causando um déficit no balanço de energia da usina (PANDEY *et al.*, 2000).

A quantidade de cada componente estrutural varia de acordo com a variedade da espécie vegetal, com o manejo empregado no cultivo da biomassa e, além disso, diferentes metodologias levam a diferentes resultados. A seguir, na Tab.(2), apresenta-se a composição estrutural do bagaço de cana reportada por diversos autores que estudam o assunto.

Tabela 2 - Composição química do bagaço de cana-de-açúcar reportada na literatura por diversos autores.

Composição estrutural do bagaço de cana - base seca (%)					
Autores	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Cinzas	Extrativos
Pandey <i>et al.</i> , 2000	50	25	25	-	-
Sun <i>et al.</i> , 2004a,b	43,6	33,5	18,1	2,3	0,8
Chen, Tu e Sheen, 2011	52,45	25,97	12,72	1,01	7,85
Limayen e Ricke, 2012	43,5	37,5	10	14	-
Guimarães <i>et al.</i> , 2009	43,5	29,5	22	2,5	-
Rocha <i>et al.</i> , 2012	45,5	27	21,1	2,2	4,6

Além disso, mesmo possuindo uma quantidade de açúcares solúveis e insolúveis considerável, o bagaço de cana também possui pouco mais de um quinto de sua massa (em média) composta por lignina, componente que não é utilizado para produzir etanol. A remoção, total ou parcial, da lignina é uma parte importante do processo, pois o grau de remoção determinará, também, o rendimento da extração dos açúcares. Essa lignina pode ser utilizada para queima na própria usina no lugar do bagaço.

2.4.CELULOSE

A celulose, o componente principal de todas as plantas, compõe de um terço à metade dos tecidos vegetais das plantas e está sempre sendo renovada através da fotossíntese (SUN *et al.*, 2004a). Particularmente, é o componente principal dos vegetais superiores, sendo um recurso renovável, biodegradável e o componente que confere rigidez e impermeabilidade às células vegetais (BHATTACHARYA, GERMINARIO e WINTER, 2008).

Quimicamente, a celulose é um polímero linear formado por moléculas de anidroglicose unidas por meio de ligações β -1,4 glicosídicas, de fórmula química geral $(C_6H_{10}O_5)_n$. Em sua estrutura, as moléculas de glicose se ligam através dos carbonos 1 e 4, formando a celobiose, a unidade básica da celulose, conforme é mostrado na Fig.(3). A ligação 1-4 ocorre com a hidroxila na posição β , proporcionando a formação de um polímero linear com comprimento de várias unidades glicosídicas (SAAD, 2010). As ligações intermoleculares são responsáveis pela rigidez da fibra e as ligações intramoleculares são responsáveis pela formação de fibrilas, estruturas altamente ordenadas que se associam formando as fibras de celulose (SILVA, 2010).

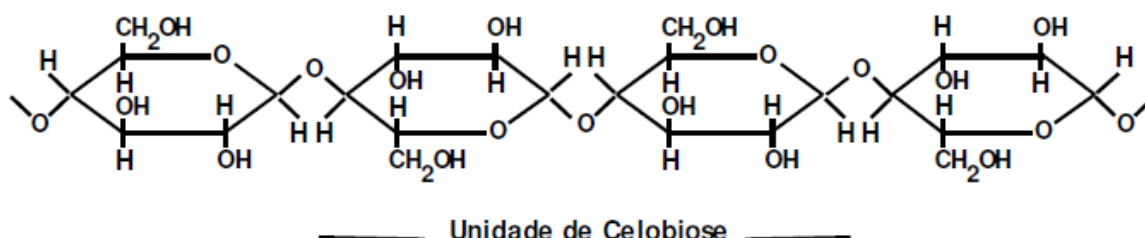


Figura 3 - Esquema da estrutura da cadeia celulósica (FENGEL e WEGENER, 1989).

A celulose ainda possui uma característica muito importante: a linearidade de sua cadeia. As extensas ligações de hidrogênio entre moléculas levam a uma estrutura de matriz cristalina e forte. Esta ligação cruzada de numerosos grupos hidroxilas constitui as microfibrilas, que dão a molécula mais força e mais compactação (LIMAYEN e RICKE, 2012). Atualmente a celulose é muito utilizada como uma matéria-prima em várias aplicações industriais, por exemplo, em indústrias de papel, tintas, têxteis, alimentos e farmacêutica (LIU *et al.*, 2006). A celulose pode, ainda, ser utilizada, além da produção de etanol de segunda geração, na produção de compósitos.

2.5. HEMICELULOSE

As hemiceluloses, ou também chamadas de polioses, se diferem basicamente da celulose por serem constituídas por cadeias amorfas, cadeias ramificadas e também compostas por diversos monômeros de açúcares e outros compostos

(MILEO, 2011). As hemiceluloses são mais suscetíveis à solubilização em água devido a sua estrutura ser amorfa (apresentando cadeia ramificada) e composta por vários açúcares diferentes. Isso também torna a hemicelulose mais fácil de ser degradada do que a celulose.

Em materiais lignocelulósicos, a hemicelulose apresenta grande variação de proporção e conteúdo, dependendo da espécie, do tipo de tecido, estágio de crescimento, condições ambientais e fisiológicas (BRIENZO, 2010), conforme mostrado na Tab. (1). A Fig. (4) mostra alguns dos principais constituintes da hemicelulose (pentoses e hexoses), que varia de acordo com a espécie vegetal. Dentre os compostos presentes na hemicelulose, os que mais se destacam são a xilose, arabinose e o ácido glucurônico. A xilose é a maior fração da hemicelulose presente no bagaço de cana (ALVES *et al.*, 1998).

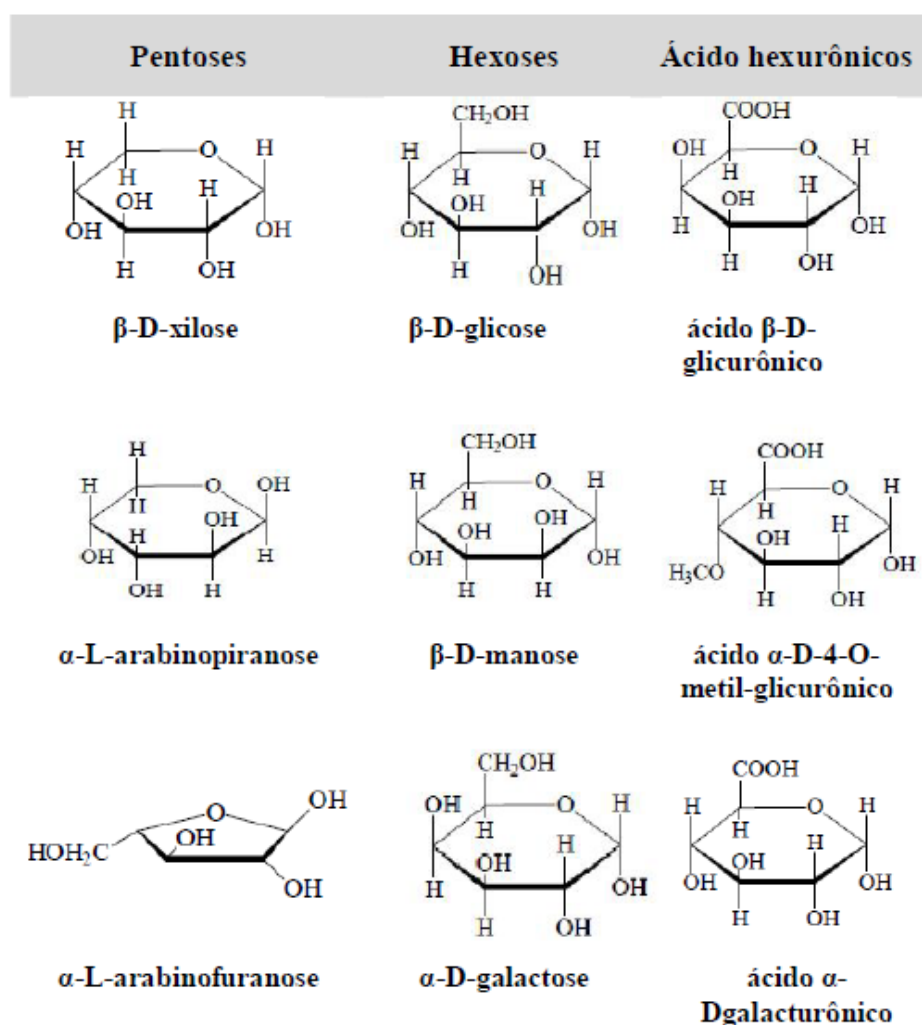


Figura 4 - Estrutura de alguns compostos que constituem a hemicelulose (CHRISTOFOLETTI, 2010).

A hemicelulose ainda não é utilizada para a produção de etanol, visto que a levedura que realiza a fermentação dos açúcares solúveis (*Saccharomyces cerevisiae*) não fermenta pentoses, apenas hexoses. Apenas outras espécies específicas de leveduras são capazes de fermentar esses açúcares, porém sua utilização em indústrias ainda é inviável devido ao alto custo e também pela baixa eficiência no processo. Logo, a hemicelulose pode ser utilizada para outros fins, como aplicações químicas e farmacêuticas, isto é, na produção de biopolímeros (SUN *et al.*, 2004b).

2.6. LIGNINA

A lignina é composta basicamente de unidades fenilpropano formando uma macromolécula tridimensional e amorfa, representando, em geral, cerca de 20 a 30% da massa dos materiais lignocelulósicos. A lignina possui uma função estrutural na parede celular de plantas superiores, agindo como uma "cola" que confere coesão ao conjunto de células (SAAD, 2010).

A lignina apresenta um importante papel no desenvolvimento de plantas, contribuindo com força mecânica e as protegendo contra o ataque de insetos e fungos. Do ponto de vista da característica da fibra, a lignina representa um dos principais entraves para processos industriais como a polpação da madeira para fabricação de papel e para produção de açúcares solúveis a partir de biomassa vegetal (BRIENZO, 2010).

A dificuldade na remoção da lignina é o maior problema para a hidrólise do material lignocelulósico. Busca-se, atualmente, desenvolver uma metodologia de pré-tratamento que remova os impedimentos estruturais à hidrólise da celulose e remova parcial ou totalmente a lignina, preservando ao máximo a celulose e hemicelulose. Outro fator que dificulta ainda mais o processo é que a lignina não possui uma estrutura definida para cada espécie vegetal, podendo variar muito a composição e o arranjo molecular. O tipo de pré-tratamento influencia na característica da lignina retirada, pois, para efeitos de análise, a lignina obtida é um conjunto de compostos de diferentes grupos funcionais oriundos da quebra de uma molécula muito maior.

2.7. PRÉ-TRATAMENTOS DE BIOMASSA

Uma das mais importantes prioridades nas áreas de pesquisa e desenvolvimento para a indústria do etanol celulósico é o desenvolvimento de um pré-tratamento eficiente na redução da estrutura rígida e liberação dos polissacarídeos presentes nos materiais lignocelulósicos.

O objetivo de qualquer pré-tratamento dos materiais lignocelulósicos é o de alterar ou remover os impedimentos estruturais ou composicionais à hidrólise. Ao quebrar a estrutura da lignina e desfazer a estrutura amorfa ao redor da celulose (hemicelulose) melhora-se o rendimento de produção de açúcares fermentáveis a partir da celulose. Ainda, a etapa de pré-tratamento promove a disrupção física da matriz lignocelulósica, a fim de facilitar a hidrólise ácida ou enzimática. Pré-tratamentos podem ter implicações significativas na configuração e eficiência do resto do processo e, por fim, também a economia (BALAT, BALAT e ÖZ, 2008). A seguir, uma ilustração (Fig. 5) que representa a ação dos pré-tratamentos químicos, em geral, nos materiais lignocelulósicos.

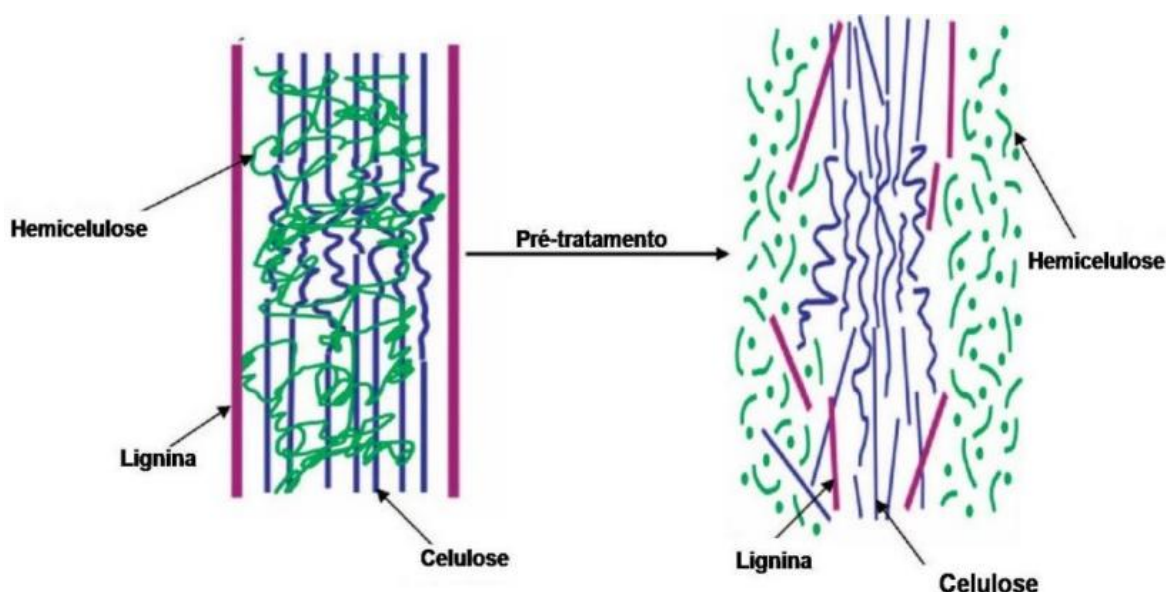


Figura 5 - Efeito dos pré-tratamentos químicos nos materiais lignocelulósicos (adaptado de US DOE, 2007).

A partir da Fig. (5) é possível perceber que a fibra possui uma ligação muito forte (entrelaçamento das linhas verdes representando a hemicelulose e as linhas azuis representando a celulose) e que o pré-tratamento promove a desunião dos constituintes. O pré-tratamento deve obedecer aos seguintes requisitos: melhorar a formação de açúcares e facilitar a sua formação a partir da hidrólise subsequente,

evitar a degradação ou perda de carboidratos, evitar a formação de subprodutos que sejam inibidores dos passos subsequentes de hidrólise e fermentação e apresentar uma boa relação custo-benefício (KUMAR *et al.*, 2009). Segundo Alvira *et al.* (2010), existem vários fatores chave para que o pré-tratamento seja efetivo. São eles: grande produtividade para diversas biomassas em diferentes locais de crescimento e tempos de colheita, sólidos pré-tratados altamente digestíveis para enzimas (no caso da hidrólise enzimática), taxas ínfimas de degradação de açúcares, menor produção de compostos tóxicos, operação em reatores de tamanho e preço moderados, alta eficiência em baixa concentração de água, compatibilidade com a fermentação, recuperação de lignina e pequeno uso de energia elétrica e térmica.

Para a etapa de pré-tratamento, vários processos têm sido propostos e desenvolvidos podendo-se destacar os processos físicos, químicos, biológicos ou uma combinação destes, conforme é mostrado na Tab.(3).

Tabela 3 - Classificação de alguns métodos de pré-tratamento da biomassa (SILVA, 2010).

Métodos físicos	Métodos químicos	Métodos biológicos	Métodos combinados
Vapor	Ozonólise	Pré-tratamento por fungos (de composição branca, parda)	Explosão a vapor
Radiação	Hidrólise com ácido diluído (H_2SO_4 , HCl , HNO_3 , H_3PO_4)	Enzimas	Hidrotérmico
Moinho de bola	Hidrólise com ácido concentrado (H_2SO_4)		SO_2 e vapor
Moinho do tipo martelo	Ácido acético		NO_2 e radiação
Barra giratória	Hidrólise alcalina		Alcalino e moinho de bolas
Água quente	Amônia		Amônia e vapor (AFEX)
Pirólise	SO_2		Explosão com CO_2
Umidificação	Processo organosolve		

Os métodos simples, mostrados na Tab.(3), compreendem a utilização de apenas um processo de pré-tratamento. Porém, hoje, busca-se trabalhar com a combinação de métodos objetivando maximizar o rendimento do tratamento, utilizando as vantagens de cada método. Os métodos de explosão a vapor e hidrólise alcalina são métodos bastante estudados hoje. O primeiro consiste no tratamento da biomassa com vapor d'água a altas pressões por alguns minutos. Depois desse tempo, o vapor é liberado e a biomassa sofre uma descompressão instantânea, o que acarreta, literalmente, numa explosão dentro das fibras, separando a lignina e parte da hemicelulose em um composto denominado licor negro.

Porém, o pré-tratamento ácido (concentrado ou diluído) é o método mais utilizado e difundido no pré-tratamento de biomassas (KUMAR *et al.*, 2009). Esse tipo de pré-tratamento é muito utilizado, pois pode ser aplicado a uma grande diversidade de biomassas, apresenta grande eficiência na remoção de hemicelulose e ainda melhora a sacarificação enzimática da celulose (ALVIRA *et al.*, 2010; CANILHA *et al.*, 2011).

O maior efeito do pré-tratamento alcalino é a remoção da lignina da biomassa, melhorando a reatividade dos polissacarídeos remanescentes. Este pré-tratamento remove os grupos acetil e os vários ácidos urônicos da hemicelulose, que baixam a acessibilidade à superfície da cadeia celulósica. Este processo é caracterizado por causar menor degradação de açúcares do que os tratamentos ácidos. No entanto, há perda possível de açúcares fermentáveis e a produção de compostos inibidores deve ser levada em consideração para aperfeiçoar as condições do pré-tratamento.

2.7.1. Pré-tratamento alcalino

O pré-tratamento alcalino refere-se à aplicação de soluções alcalinas para remover lignina e também parte da hemicelulose, que diminuem a acessibilidade das enzimas e do ácido para a hemicelulose e celulose. Estes processos utilizam temperaturas e pressões mais baixas em relação a outras tecnologias de pré-tratamento. O pré-tratamento alcalino pode ser efetuado em condições ambiente, mas o tempo de pré-tratamento é medido em termos de horas ou dias, em vez de minutos ou segundos (BALAT, 2011).

Independentemente das vantagens, este método apresenta dificuldades do ponto de vista da economia do processo de obtenção de combustíveis, como a recuperação do álcali no processo. Zheng, Pan e Zhang (2009) afirmam que uma das grandes desvantagens do processo é a conversão do álcali em sais que não podem ser recuperados ou ainda a incorporação desses sais na biomassa, o que pode acarretar em uma diminuição da eficiência do pré-tratamento alcalino. O hidróxido de sódio (NaOH), hidróxido de potássio (KOH), hidróxido de cálcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) ou hidróxido de amônio (NH_4OH) são bases apropriadas para este pré-tratamento. Destes quatro, o NaOH é o que tem sido mais estudado (QUILHÓ, 2011).

O tratamento da biomassa lignocelulósica com NaOH diluído causa a sua dilatação, conduzindo a um aumento da área de superfície interna, a diminuição da cristalinidade, a separação das ligações estruturais entre a lignina e os carboidratos e a quebra da estrutura da lignina (BALAT, 2011; QUILHO, 2011). Segundo Zheng, Pan e Zhang (2009) acredita-se que o mecanismo de ação ativo seja a saponificação de ésteres de ligações intramoleculares ligadas a hemiceluloses e outros componentes, como a lignina. Xu *et al.* (2010) confirmam em seu trabalho que a concentração do álcali e o tempo de residência do agente impregnante são fatores importantes na recuperação de açúcares solúveis, evidenciando que há uma grande recuperação de açúcares e grande exposição da cadeia celulósica devido à baixa concentração de álcali e ao grande tempo de residência da reação.

2.8. HIDRÓLISE

Os polímeros de açúcares, presentes nos materiais lignocelulósicos, necessitam de uma etapa de quebra da cadeia celulósica para a obtenção de açúcares solúveis. A hidrólise quebra as ligações de hidrogênio e as ligações glicosídicas nas frações de hemicelulose e de celulose, reduzindo-as aos seus açúcares constituintes: pentoses e hexoses (ROCHA *et al.*, 2011). Estes açúcares podem depois ser fermentados a etanol, enquanto que a lignina resulta num subproduto do processo.

Os métodos mais utilizados para hidrolisar a biomassa vegetal podem ser classificados em dois grupos, hidrólise química e hidrólise enzimática (QUILHÓ, 2011). Existem outros métodos de hidrólise, nos quais não são utilizados produtos químicos ou enzimas, por exemplo, irradiação com raios gama ou feixe de elétrons e

irradiação com micro-ondas, porém estes processos não são economicamente viáveis. A hidrólise química geralmente é feita com a aplicação de ácidos, na qual o mais utilizado é o ácido sulfúrico (H_2SO_4), embora outros ácidos, como o ácido clorídrico (HCl), também possam ser utilizados.

2.8.1. Hidrólise ácida

A hidrólise ácida envolve a exposição dos materiais lignocelulósicos a um ácido durante um determinado período de tempo e a uma temperatura específica, resultando na formação de monômeros de açúcares (glicose, xilose, arabinose) provenientes dos polímeros de celulose e de hemicelulose (BALAT, BALAT e ÖZ, 2008; QUILHÓ, 2011).

A hidrólise com ácido concentrado utiliza, usualmente, ácido sulfúrico concentrado, seguido por uma diluição em água, para dissolver e hidrolisar o substrato em açúcares. O processo promove uma conversão rápida e completa da celulose em glicose, e da hemicelulose em pentoses e hexoses, com pouca formação de produtos de degradação (BALAT, 2011). A principal vantagem do processo de hidrólise com ácido concentrado é o seu potencial para uma elevada eficiência de recuperação de açúcares. A utilização de baixas temperaturas e pressões, além de minimizar a degradação dos açúcares, permite também a utilização de materiais de custo relativamente baixo, tais como reatores em fibra de vidro (VERARDI *et al.*, 2011). A principal desvantagem é a de ser um processo relativamente lento, tendo sido difícil desenvolver sistemas de recuperação do ácido a custo aceitável. Sem recuperação do ácido, torna-se necessária a utilização de grandes quantidades de cal para neutralizá-lo, originando grandes quantidades de sulfato de cálcio, o que aumenta consequentemente o custo do processo (QUILHÓ, 2011).

A hidrólise com ácido diluído é o método mais antigo de se obter açúcares solúveis para produção de etanol a partir de materiais lignocelulósicos (BALAT, 2011). A hidrólise com ácido diluído é operada a elevadas temperaturas e pressões, e com um período de reação que varia de segundos a minutos, o que facilita o processamento contínuo. Sua principal vantagem é o seu curto tempo de reação, o que facilita o processamento contínuo. O principal desafio atual dos processos de hidrólise com ácido diluído é o de aumentar as taxas de recuperação de glicose para valores acima dos 70%, num processo industrial economicamente viável, mantendo

simultaneamente taxas elevadas de hidrólise de celulose e minimizando a decomposição da glicose em compostos indesejados, como o furfural e o hidroximetilfurfural (DA SILVA, 2009). A Fig. (6) mostra um esquema representando o mecanismo proposto das reações de hidrólise da celulose em glicose.

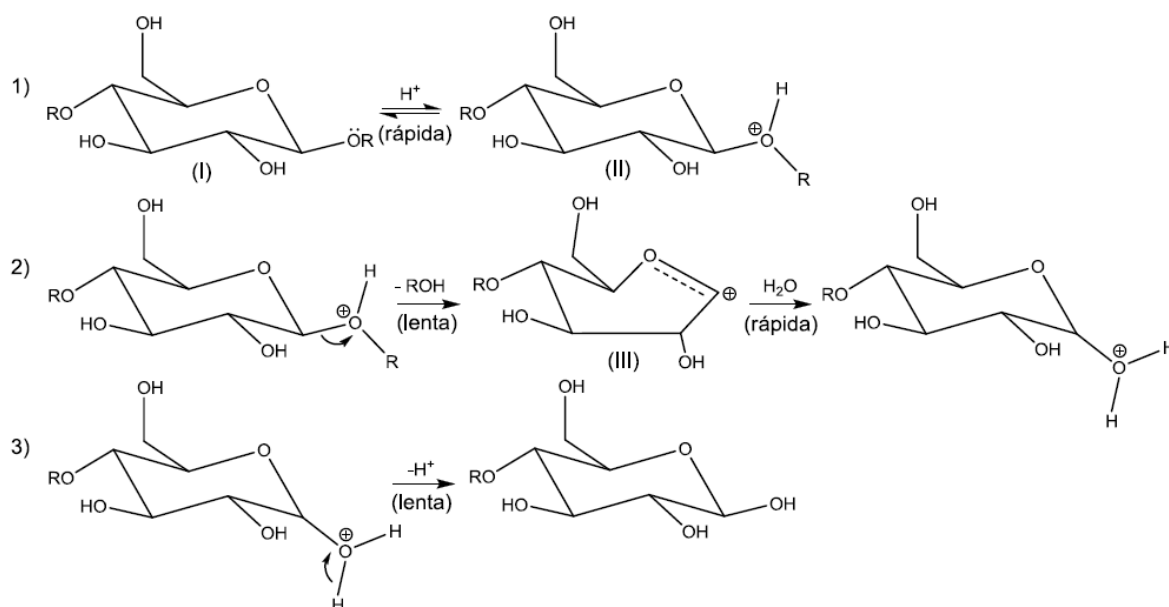


Figura 6 - Mecanismo de hidrólise ácida da celulose (GURGEL, 2010).

Segundo De Paula (2009), o mecanismo de hidrólise pode ser explicado como: a protonação do oxigênio glicosídico (1) leva a quebra da ligação C-O (2), formando uma molécula de água e um carbocátion, que sofre um ataque nucleofílico de uma molécula de água (2), formando uma molécula de glicose (3). A hidrólise das hemiceluloses (polioses) se dá por mecanismos similares, gerando os açúcares solúveis que as constituem, como por exemplo, a xilose e a arabinose.

2.9. PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO

Um dos principais problemas da hidrólise de biomassas lignocelulósicas para produção do bioetanol é a formação dos compostos inibidores da fermentação. Tais compostos podem inibir o poder de fermentação do microorganismo e diminuir drasticamente a taxa de produção de etanol a partir do hidrolisado (TAHERZADEH *et al.*, 1997; PALMQVIST e HAHN-HÄGERDAL, 2000b). Existem quatro grandes grupos de compostos indesejados formados durante a hidrólise do material lignocelulósico: produtos de degradação dos açúcares solúveis (furfural e

hidroximetilfurfural), produtos de degradação da lignina (compostos fenólicos), compostos derivados da estrutura lignocelulósica e metais pesados (PARAJO, DOMINGUEZ e DOMINGUEZ, 1996). Dentre esses, os produtos de degradação de açúcares solúveis aparecem como os principais inibidores da fermentação.

2.9.1. Furfural

O furfural é produzido a partir da degradação de pentoses (xilose, arabinose) numa reação de desidratação (DE PAULA, 2009). É um composto heterocíclico aromático, com um grupo funcional aldeído. A seguir, na Fig. (7), é apresentada sua fórmula estrutural.

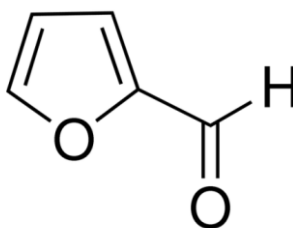


Figura 7 - Fórmula estrutural do furfural (SIGMA-AUDRICH, 2014).

O furfural é um composto tóxico às leveduras que fermentam glicose a etanol, pois pode comprometer o mecanismo de glicólise, inibindo enzimas chaves como a álcool desidrogenase e a triose fosfato desidrogenase (BANERJEE, BHATNAGAR e VISWANATHAN, 1981). Wikandari *et al.* (2010) trabalharam no estudo da fermentação de açúcares pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* na presença de compostos inibidores (furfural). O estudo dos autores mostrou que uma concentração maior que 0,5 g/L de furfural no caldo fermentativo diminuiu consideravelmente o crescimento da levedura, a produtividade de etanol e o consumo de glicose. Delgenes, Moletta e Navarro (1996) também chegaram à mesma conclusão em seu estudo, mostrando ainda que a levedura tem uma tolerância maior a hidroximetilfurfural.

2.9.2. Hidroximetilfurfural

O hidroximetilfurfural (HMF) é produzido a partir da degradação de hexoses, notadamente a glicose, numa reação de desidratação (SANCHEZ e BAUTISTA, 1988; DE PAULA, 2009). É um composto heterocíclico aromático, assim como o furfural, diferenciando-se por apresentar um radical “hidroximetil”. A seguir, na Fig. (8), é apresentada sua fórmula estrutural.

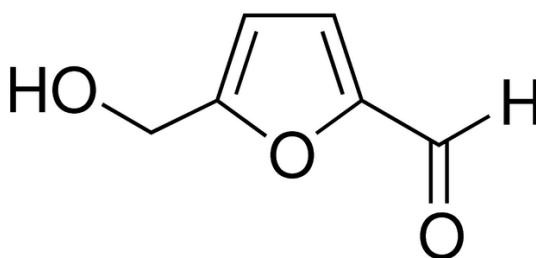


Figura 8 - Fórmula estrutural do HMF (SIGMA-AUDRICH, 2014).

Assim como o furfural, o HMF também é tóxico para as leveduras que fermentam os açúcares a etanol. Da mesma forma, o HMF pode levar a inibição do mecanismo de glicólise, porém com menor intensidade que o furfural (SANCHEZ e BAUTISTA, 1988). Wikandari *et al.* (2010) também estudaram os efeitos do HMF no meio fermentativo. Concentrações acima de 0,5 g/L de HMF diminuem drasticamente a produtividade de etanol e o crescimento da levedura, embora o consumo de glicose, nessa concentração, ainda seja 100%. A tolerância maior ao HMF, reportada por Delgenes, Moletta e Navarro (1996), vem do fato de a levedura, após um longo período de residência, conseguir aclimatar-se a altas concentrações desse inibidor. A levedura ainda pode fermentar os açúcares, porém a taxas bem menores que as sem inibidores presentes.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A seguir, é apresentado um fluxograma que descreve a sequência de trabalho proposta como tratamento a ser aplicado ao bagaço de cana para extração de açúcares fermentáveis (Fig. 9).

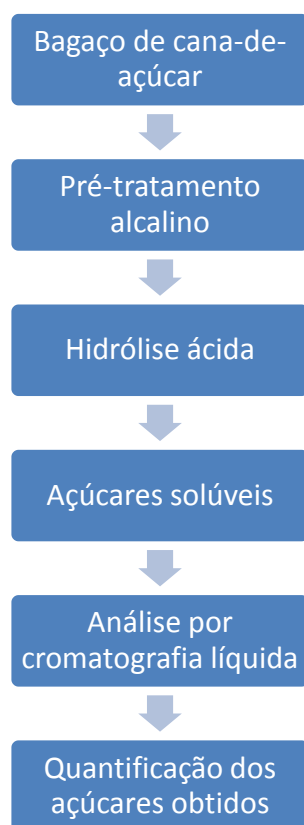


Figura 9 - Fluxograma geral do processo de extração de açúcares solúveis do bagaço de cana.

A sequência escolhida para o trabalho tem por objetivo avaliar a eficiência da polpação alcalina, em diferentes concentrações de álcali, para a remoção da lignina, e também avaliar a hidrólise ácida com ácido diluído e concentrado para extração dos açúcares solúveis, a ação da hidrólise ácida em diferentes concentrações diante de um pré-tratamento alcalino, também em diferentes concentrações. A seguir é apresentado um fluxograma mais detalhado sobre as etapas de tratamento propostas.

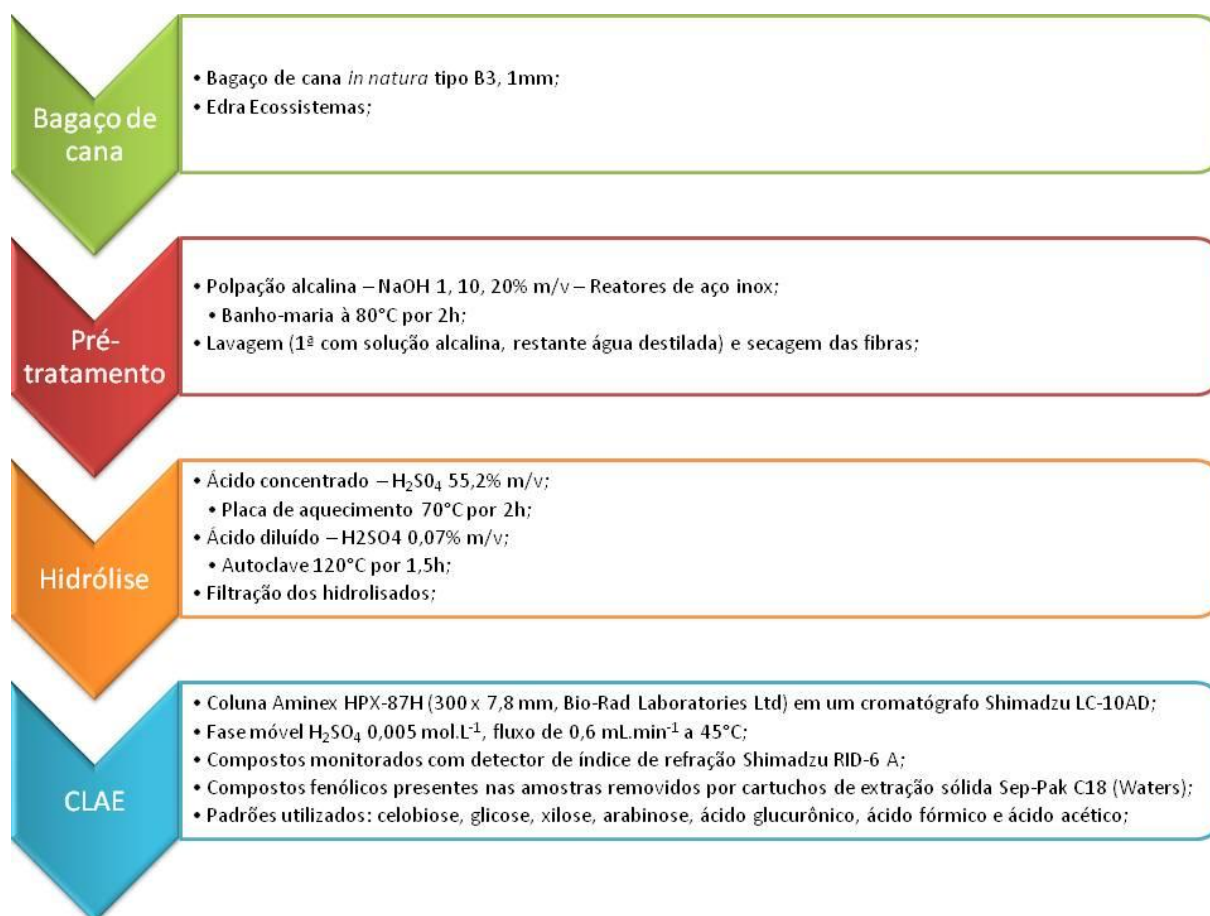


Figura 10 - Fluxograma detalhado da sequência de tratamento proposta.

3.1. MATERIAIS

O bagaço de cana utilizado no trabalho foi gentilmente cedido pela Edra Ecosystemas, do tipo B3 (1 mm). Sua caracterização química está descrita na Tab. (4). Os reagentes utilizados no trabalho foram cedidos pelo Laboratório de Tecnologias de Biomassa (FGA-UnB).

Tabela 4 - Caracterização química do bagaço de cana-de-açúcar *in natura* fornecido pela Edra Ecosystemas, em base seca (LUZ, 2008).

Componentes	%
Celulose	44,69
Hemicelulose	28,73
Lignina	27,35
Extrativos	0,83
Cinzas	1,26
Total	102,86

3.2. PRÉ-TRATAMENTO

A metodologia de pré-tratamento baseou-se na utilização da base hidróxido de sódio (NaOH) por ser um reagente relativamente barato e de fácil obtenção. As concentrações (1, 10 e 20% m/v) foram propostas a fim de avaliar o grau de exposição da cadeia celulósica ao ataque ácido e também avaliar a degradação do material causada pela base.

Em reatores de aço inox adicionou-se 15 g de bagaço juntamente com 150 mL de solução de NaOH com diferentes concentrações (1, 10 ou 20% m/v), mantendo uma razão sólido: líquido de 1:10 (m/v). Os pré-tratamentos alcalinos foram realizados em duplicata e foram conduzidos em banho-maria à temperatura de 80°C por 2 horas, agitando-se o conteúdo ocasionalmente. Logo após o resfriamento dos reatores, procedeu-se com a lavagem das polpas da seguinte forma: em um funil de Buckner com papel de filtro colocou-se o conteúdo do reator e realizou-se a primeira lavagem da fibra com 50 mL de cada solução de pré-tratamento correspondente e as seguintes com água destilada até a neutralização do pH da fibra. Após a lavagem das fibras, estas foram colocadas para secar a temperatura ambiente e, quando secas, colocadas em estufa a 100°C por cerca de 5 horas. Após secagem em estufa, foram colocadas em dessecador e consequentemente pesadas e armazenadas.

3.3. HIDRÓLISE

A metodologia de hidrólise ácida baseou-se na utilização de ácido sulfúrico (H₂SO₄) por ser um reagente comumente adotado em hidrólise ácida de material

lignocelulósico. Duas concentrações foram propostas, 55,2% m/v e 0,07% m/v. O valor de 55,2% m/v foi adaptado do trabalho de De Paula (2009) por apresentar valores satisfatórios de recuperação de açúcares solúveis com essa concentração de ácido. Enquanto que o valor de 0,07% m/v foi adaptado do trabalho de GURGEL (2010), o qual também evidenciou boa recuperação de açúcares com essa concentração de ácido. O método, nos dois casos, foi adaptado à realidade do laboratório no qual foram realizadas todas essas reações, não repetindo, de maneira integral, os experimentos nos quais o trabalho se baseou.

Para a metodologia de hidrólise com ácido diluído (0,07% m/v) utilizou-se 0,6 g de bagaço pré-tratado, colocados em Erlenmeyer de 250 mL. As reações foram feitas em duplicata com cada uma das amostras de bagaço pré-tratados com NaOH nas diferentes concentrações (1, 10 e 20 % m/v). Aos frascos Erlenmeyer adicionou-se 15 mL de solução de H_2SO_4 0,07% m/v. Os frascos foram tampados com papel alumínio e encaminhados à reação de hidrólise em autoclave a 120°C por 1,5 h, tempo esse que foi marcado quando o equipamento atingiu a pressão de 1,01 atm. Após o tempo estipulado e posterior resfriamento, procedeu-se com a filtração dos hidrolisados e em seguida com o ajuste de volume das amostras, em balão volumétrico de 100 mL. As amostras foram encaminhadas para determinação de carboidratos solúveis por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Para a metodologia de hidrólise com ácido concentrado (55,2% m/v) utilizou-se 2 g de bagaço pré-tratado, colocados em Erlenmeyer de 250 mL. As reações foram feitas em duplicata com cada uma das amostras de bagaço pré-tratados com NaOH nas diferentes concentrações (1, 10 e 20% m/v). Após isso, adicionou-se o bagaço e 60 mL de solução de H_2SO_4 55,2% m/v. A hidrólise ácida foi conduzida em placa de aquecimento com agitação magnética constante a 70°C por 2h30, tempo esse que contabilizou o período de aquecimento da mistura até a referida temperatura. Após a hidrólise e posterior resfriamento, procedeu-se com a filtração dos hidrolisados e em seguida com o ajuste de volume das amostras, em balão volumétrico de 250 mL. As amostras foram conduzidas para análises de carboidratos solúveis em CLAE.

3.4. ANÁLISE DOS AÇÚCARES POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

A análise seguiu a metodologia de Sluiter *et al.* (2008a), que estabelece condições para a realização de análise de CLAE para açúcares obtidos a partir de hidrólise da biomassa. Excetuando-se a temperatura, todas as diretrizes foram rigorosamente seguidas.

As amostras obtidas foram analisadas, utilizando uma coluna Aminex HPX-87H (300 x 7,8 mm, Bio-Rad Laboratories Ltd) em um cromatógrafo Shimadzu LC-10AD. Como fase móvel empregou-se H_2SO_4 0,005 mol.L⁻¹ com fluxo de 0,6 mL.min⁻¹ a 45°C. Os compostos foram monitorados com um detector de índice de refração Shimadzu RID-6 A, sendo os compostos fenólicos presentes nas amostras removidos por cartuchos de extração sólida Sep-Pak C18 (Waters). Os cromatogramas das amostras foram comparados com curvas padrão dos açúcares e ácidos orgânicos. Foram avaliados os seguintes açúcares e ácidos orgânicos: celobiose, glicose, xilose, arabinose, ácido glucurônico, ácido fórmico e ácido acético.

4. ANÁLISE DOS RESULTADOS

4.1. ETAPA DE PRÉ-TRATAMENTO

A polpação alcalina é um método muito difundido e relativamente simples de ser realizado, porém suas condições devem ser bem estabelecidas visando o melhor rendimento da reação. O procedimento adotado no trabalho visou estudar a influência que a concentração de hidróxido de sódio tem na hidrólise dos carboidratos presentes no bagaço de cana-de-açúcar. A seguir é apresentada a Tab. (5) com as massas de bagaço antes e depois do tratamento com NaOH.

Tabela 5 - Massa de bagaço antes e depois do pré-tratamento (polpas).

Concentração do álcali (m/v)	Massa de bagaço <i>in natura</i> (g)	Massa de polpa pré-tratada (g)	Variação de Massa (%)
1%	14,999	31,791	+111,95
	15,000	29,309	+95,39
10%	15,013	11,962	-20,32
	15,011	8,084	-46,15
20%	15,003	9,271	-38,21
	15,007	6,026	-59,84

Visualmente, a polpação alcalina com concentração de 1% m/v mostrou um ataque apenas superficial nas fibras do bagaço de cana. A baixa concentração de NaOH não foi capaz de remover bem a lignina que existia na fibra. Isto foi evidenciado pela forma final da fibra no pré-tratamento e também pela quantidade de material após a polpação. Após a reação, a massa restante foi muito próxima da massa inicial, o que remete a pouca remoção da lignina pelo tratamento. O acréscimo de massa apresentado na Tab. (5) refere-se à quantidade de água presente na fibra, que não foi totalmente seca. O tratamento alcalino fraco pode ser aproveitado de uma forma melhor se realizado em uma fibra que já tenha sido pré-tratada, pois seu papel seria apenas de promover uma remoção da lignina restante na fibra. Mileo (2011) realizou um pré-tratamento de explosão a vapor e em seguida uma polpação alcalina com NaOH 1,5% m/v. A autora apresenta uma remoção de cerca de 80% de lignina na polpa pré-tratada, corroborando o fato de que com um tratamento anterior à polpação alcalina favorece a remoção da lignina.

Xu *et al.* (2010) também estudaram o pré-tratamento alcalino em baixas concentrações. Os autores estudaram a polpação alcalina de gramíneas (*Panicum virgatum* L.) variando três parâmetros fundamentais no pré-tratamento: tempo de residência, concentração do álcali e temperatura da reação. Como resultado, a maior recuperação de açúcar foi obtida quando se pré-tratou a biomassa com NaOH 1% m/v, a 50° C e por 12 h. Nessas condições, houve uma perda de massa de 31,79% da massa inicial da biomassa. Guardadas as devidas proporções entre as duas matérias-primas, com a diminuição da temperatura que foi utilizada no trabalho (80 para 50° C) e o aumento do tempo de residência, de 2 para 12 h, seria possível, segundo os autores, uma boa recuperação de açúcares.

A polpação com concentração de 10% m/v mostrou, ao contrário da anterior, uma possível maior remoção de lignina. O aspecto final da fibra foi muito diferente da inicial, em que se pôde perceber a sua degradação. A massa final corrobora com esse resultado. Nas duas polpações feitas a essa concentração, utilizou-se uma massa inicial de 15,011 g e 15,013 g (reações em duplicata), de acordo com a Tab. (5), de bagaço de cana *in natura*. A massa final medida de cada reação foi, respectivamente 8,084 g e 11,962 g. Isso mostra que um percentual considerável de massa foi extraído da fibra com o tratamento (46,15 e 20,32%, respectivamente) e também que esse tratamento expõe mais a parte desejada, a celulose, para posterior hidrólise ácida.

Na literatura, existem poucos estudos sobre o pré-tratamento com base concentrada. O processo Kraft, de produção de polpas celulósicas para produção de papel, por exemplo, deslignifica a madeira com altas temperaturas e concentrações de álcali. Essa concentração maior (10% m/v) pode acarretar em grande remoção de lignina, porém também pode ocasionar a hidrólise da celulose e hemicelulose, podendo produzir, devido às condições de tratamento, compostos de degradação de açúcares e compostos de degradação da lignina (GOMIDE, OLIVEIRA e COLODETTE, 1980). No caso do trabalho, é possível que tenha acontecido uma boa remoção de lignina, porém alguma hidrólise e posterior degradação de açúcares.

A polpação com concentração de 20% m/v mostrou-se muito mais vigorosa que as duas anteriores. Durante a reação, não se conseguia distinguir líquido e sólido dentro do reator. O grau de degradação da fibra nessa concentração de álcali é muito grande, fato que pode ser observado na diferença de massa entre a etapa inicial e a etapa final. No início havia 15,003 g em um reator e no outro 15,007 g

(reações em duplicata). No final da reação cada reator continha, respectivamente, 6,026 g e 9,271 g, conforme apresentado na Tab. (5), evidenciando uma perda de massa de 38,21% e 59,84% da massa inicial, respectivamente. Esse é um tipo de pré-tratamento muito severo, e por esse motivo (a excessiva perda de massa) pode-se considerá-lo ineficiente, porque além de remover bem a lignina (desejável), esse tipo de tratamento muito severo tende a remover também outras partes da fibra como a hemicelulose. Outro efeito indesejado da alta concentração de álcali são as reações correlatas que acontecem devido à degradação dos açúcares, pois estes reagem com a base produzindo sais que não são mais recuperáveis e úteis para fermentação a etanol. Considerando 15 g de fibra e que o bagaço é composto, em geral, por 25% de lignina percebe-se que houve uma remoção excessiva de celulose e hemicelulose, pois, caso toda a lignina fosse removida (3,75 g), 1,979 g de celulose e hemicelulose seriam removidas, no melhor dos casos.

Com essa análise preliminar supõe-se que as polpas pré-tratadas com NaOH 10% m/v apresentem os resultados mais satisfatórios, pois não mostraram perda excessiva de massa, sendo condizente com a remoção de parte da lignina e também uma pequena parte de celulose e hemicelulose. Ele pode ser apontado como o mais eficiente, dentre os estudados, pois ele não degrada demasiadamente a fibra, como no tratamento com solução de NaOH 20% m/v, e também não remove superficialmente a lignina, como o tratamento com solução de NaOH 1% m/v. Portanto, espera-se que na etapa da hidrólise a maior obtenção de glicose seja proveniente dessa fibra tratada com solução de NaOH 10% m/v.

4.2. ETAPA DE HIDRÓLISE

A hidrólise ácida foi escolhida como objeto de estudo porque ela é amplamente estudada e também por causa do menor custo em relação a outros tipos de hidrólise, como a enzimática. O ácido escolhido para o trabalho foi o ácido sulfúrico (H_2SO_4), devido ao baixo custo e também pela ampla abordagem em trabalhos científicos dessa área. Para a quantificação dos açúcares provenientes do bagaço de cana é importante conhecer qual a quantidade máxima de cada um que se pode obter, a fim de avaliar a eficiência dos pré-tratamentos e hidrólise. A seguir na Tab. (6) é mostrado o percentual de cada açúcar que pode ser recuperado na hidrólise do bagaço de cana. A composição do bagaço de cana é obtida da seguinte

forma: o bagaço é moído e amostras de 2 g de bagaço seco são tratadas com 10 mL de H_2SO_4 72% m/m, sob vigorosa agitação, em banho termostatizado a $45 \pm 0,5$ °C por 7 min. A fração principal de lignina é determinada por gravimetria pelo método Klaxon (ASTM, 1956) após hidrólise e as cinzas são determinadas utilizando o resíduo da hidrólise.

Tabela 6 - Composição do bagaço de cana, em base seca (LUZ, 2008).

Componente	%
Celobiose	2,01
Ácido Glucurônico	0,76
Glicose	40,75
Xilose	21,68
Arabinose	2,07
Ácido Acético	2,82
Extrativos	0,83
Lignina Insolúvel	18,98
Lignina Solúvel	8,49
Cinzas	1,11
Total	99,50

Dois tipos de hidrólise foram aplicadas: a hidrólise com ácido concentrado (AC) e a hidrólise com ácido diluído (AD). A abordagem desses dois tipos tem por objetivo a comparação dos métodos de hidrólise para que, em trabalhos futuros, possa haver alguma metodologia criada a partir dessa análise. A seguir são apresentadas as Tabs. (7) e (8), que mostram as massas de polpa pré-tratada que foram utilizadas no trabalho.

Tabela 7 - Massas de polpas pré-tratadas que foram submetidas à metodologia de hidrólise AC.

	Bagaço pré-tratado com NaOH 1%	Bagaço pré-tratado com NaOH 10%	Bagaço pré-tratado com NaOH 20%
Massa fibra 1 (g)	2,000	1,998	2,007
Massa fibra 2 (g)	2,010	2,003	1,999
Massa fibra total (g)	4,010	4,001	4,006
Umidade (%)	7,74	7,4	7,8
Massa seca total (g)	3,700	3,705	3,694

Tabela 8 - Massas de polpas pré-tratadas que foram submetidas à metodologia de hidrólise AD.

	Bagaço pré-tratado com NaOH 1%	Bagaço pré-tratado com NaOH 10%	Bagaço pré-tratado com NaOH 20%
Massa fibra 1 (g)	0,607	0,607	0,599
Massa fibra 2 (g)	0,601	0,599	0,602
Massa fibra total (g)	1,208	1,206	1,201
Umidade (%)	7,74	7,4	7,8
Massa seca total (g)	1,115	1,117	1,107

A metodologia AC mostrou, no geral, ser eficaz na quebra da celulose, fato esse que pode ser verificado a partir da análise cromatográfica dos hidrolisados. As Tabs. (9), (10) e (11) mostram a massa de cada açúcar obtido, a concentração de cada um e o tempo de retenção, após a hidrólise AC.

Tabela 9 - Compostos obtidos a partir da metodologia AC, pré-tratados com NaOH 1% m/v.

	Área	Tempo de retenção (min)	Concentração (g/L)	Percentual em massa dos compostos (%)
Celobiose	251078,125	7,382	0,985	6,30
Glicose	45069,664	8,798	0,188	1,14
Xilose	137815,234	9,448	0,547	3,25
Arabinose	31496,168	10,315	0,110	0,66
Ácido fórmico	260,7	13,215	0,009	0,19

Tabela 10 - Compostos obtidos a partir da metodologia AC, pré-tratados com NaOH 10% m/v.

	Área	Tempo de retenção (min)	Concentração (g/L)	Percentual em massa dos compostos (%)
Celobiose	--	--	--	--
Glicose	344550,500	8,815	1,420	8,62
Xilose	156374,313	9,432	0,621	3,68
Arabinose	148364,625	10,315	0,527	3,13
Ácido fórmico	12500,657	13,465	0,171	3,55

Tabela 11 - Compostos obtidos a partir da metodologia AC, pré-tratados com NaOH 20% m/v.

	Área	Tempo de retenção (min)	Concentração (g/L)	Percentual em massa dos compostos (%)
Celobiose	182449,442	7,365	0,712	4,57
Glicose	69269,439	8,815	0,275	1,67
Xilose	53296,902	9,448	0,211	1,26
Arabinose	57459,441	10,332	0,203	1,21
Ácido fórmico	--	--	--	--

Analisando em termos de massa obtida, o maior rendimento de extração da glicose ocorreu na fibra pré-tratada com solução de NaOH 10% m/v. O resultado era esperado, pois o pré-tratamento se mostrou eficaz na remoção da lignina e dos impedimentos estruturais à hidrólise. A seguir, são apresentados na Fig. (11), os percentuais dos açúcares extraídos na sequência com hidrólise AC, comparando com os teores de açúcares do bagaço de cana *in natura*.

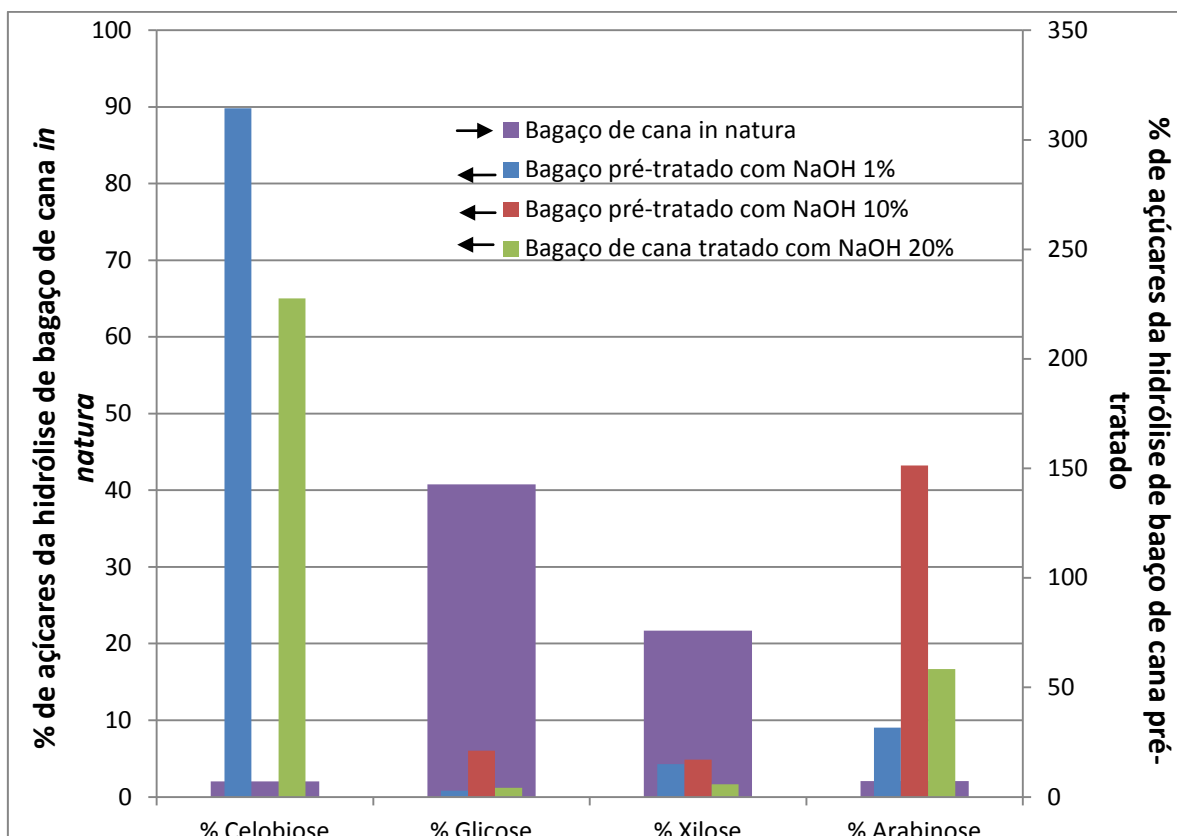


Figura 11 - Percentuais de açúcares hidrolisados com AC do bagaço de cana pré-tratado em relação ao bagaço de cana *in natura*.

Observou-se que nas fibras tratadas com hidróxido de sódio a 1% m/v houve uma quebra muito maior da hemicelulose (polioses) e celobiose, fato que também se esperava, pois o ácido acabou por atacar a parte mais externa da fibra, que no caso era a hemicelulose com um teor de lignina maior que nos demais, acarretando na pouca degradação da cadeia celulósica. A grande quantidade de celobiose encontrada pode ser devida à quebra parcial das ligações β -1-4 presentes na estrutura da celulose, levando à formação das moléculas de celobiose. A grande hidrólise de hemicelulose deve-se também ao fato de que ela possui cadeias ramificadas, ou seja, mais amorfa, o que implica numa maior interação com o ácido.

As fibras pré-tratadas com NaOH 10% m/v, depois de hidrolisadas, mostraram um rendimento alto de glicose (o maior dentre as sequências de hidrólise AC testadas). A razão para isso ter acontecido está na eficiente remoção da lignina e exposição da cadeia celulósica ao ataque ácido, proporcionada pelo pré-tratamento. Com o elevado teor de glicose obtido, sugere-se que esse seja o melhor método para a obtenção de glicose, dentre os estudados até aqui.

O aparecimento do ácido fórmico é estranho e pode ser devido a dois fatores: temperatura excessiva em nos tratamentos realizados ou a degradação de hidroximetilfurfural (HMF) em ácido fórmico (GOUVEIA, NASCIMENTO e SOUTO-MAIOR, 2009). A glicose e a xilose, quando em meio ácido, podem sofrer decomposição a HMF e furfural, respectivamente. O furfural e o HMF também podem decompor-se em meio ácido. O primeiro pode se decompor em compostos de condensação, como polímeros, assim como o segundo, que também pode decompor-se a ácido fórmico e ácido levulínico (DE PAULA, 2009). Logo, a presença de ácido fórmico é confirmada pela decomposição de hidroximetilfurfural. Assim, o rendimento de glicose poderia ter sido maior considerando que parte dela foi decomposta.

A hidrólise das fibras tratadas com NaOH concentrado (20% m/v) mostrou um rendimento em glicose baixo, porém superior ao tratado com NaOH 1% m/v. Isso pode ser explicado também pelo pré-tratamento severo, que deve ter hidrolisado bem a hemicelulose e também parte da celulose, acarretando numa menor concentração de açúcares ao final da hidrólise. O pré-tratamento severo não se mostrou, portanto, um bom método a ser aplicado em conjunto com a hidrólise AC.

A metodologia AD, no geral, mostrou-se eficiente na hidrólise de açúcares da polpa pré-tratada. Diferentemente da metodologia AC, a metodologia AD apresentou resultados satisfatórios de extração de açúcares apenas nas polpas tratadas com NaOH 1%, conforme descrito em várias literaturas (ROCHA *et al.*, 2011; CHEN, TU e SHEEN, 2011; VERARDI *et al.*, 2011), porém deve-se considerar que essa metodologia tem uma concentração baixíssima de ácido (0,07% m/v). Com concentração pouco maior tende a ser possível um percentual de extração maior. As Tabs. (12), (13) e (14) mostram os resultados obtidos na hidrólise AD das fibras pré-tratadas.

Tabela 12- Compostos obtidos a partir da metodologia AD, pré-tratados com NaOH 1% m/v.

	Área	Tempo de retenção (min)	Concentração (g/L)	Percentual em massa dos compostos (%)
Celobiose	250645,391	7,382	0,984	20,90
Glicose	161039,109	8,798	0,665	13,42
Xilose	56917,609	9,432	0,226	4,46
Arabinose	18591,996	10,315	0,0642	1,27
Ácido fórmico	3638,000	13,415	0,0535	3,71

Tabela 13 - Compostos obtidos a partir da metodologia AD, pré-tratados com NaOH 10% m/v.

	Área	Tempo de retenção (min)	Concentração (g/L)	Percentual em massa dos compostos (%)
Celobiose	22265,15	7,382	0,0744	1,58
Glicose	82981,156	8,815	0,344	6,92
Xilose	4329,04	9,415	0,0170	0,33
Arabinose	1680,2	10,315	0,00389	0,08
Ácido fórmico	--	--	--	--

Tabela 14 - Compostos obtidos a partir da metodologia AD, pré-tratados com NaOH 20% m/v.

	Área	Tempo de retenção (min)	Concentração (g/L)	Percentual em massa dos compostos (%)
Celobiose	76876,898	7,357	0,292	6,24
Glicose	22529,66	8,807	0,095	1,93
Xilose	6920,266	9,457	0,0273	0,54
Arabinose	3537,642	10,357	0,0105	0,21
Ácido fórmico	--	--	--	--

A hidrólise AD que apresentou melhores resultados foi a realizada em polpa a NaOH 1%. Supõe-se nesse caso que a hidrólise ácida atuou como um pré-tratamento ácido, no qual promoveu boa hidrólise de hemicelulose e boa extração de glicose também. A seguir, são apresentados na Fig. (12) os percentuais dos açúcares extraídos na sequência com hidrólise AD, comparando com os teores de açúcares do bagaço de cana *in natura*.

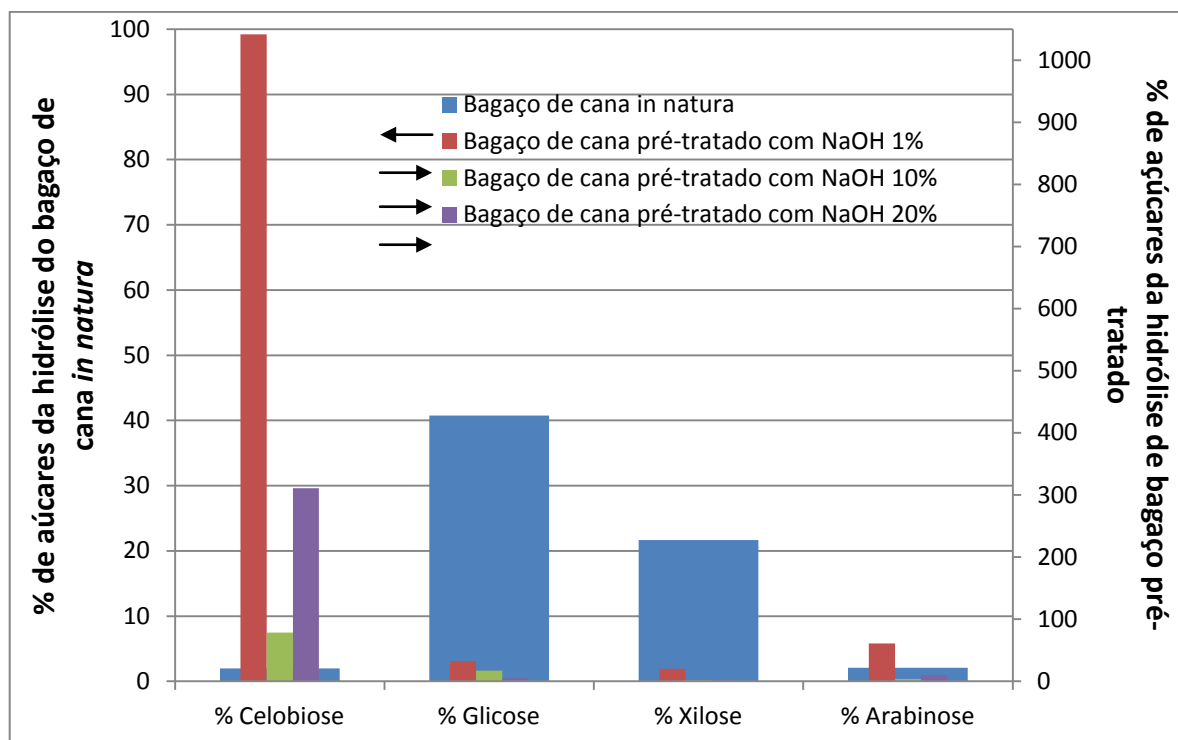


Figura 12 - Percentuais de açúcares hidrolisados com AD do bagaço de cana pré-tratado em relação ao bagaço de cana *in natura*.

É possível perceber que a hidrólise AD atuou de maneira mais eficaz na polpa tratada com NaOH 1%. A partir da Tab. (12) percebe-se a grande quantidade de celobiose, glicose, xilose e arabinose que foi extraído. A Figura 12 mostra que foi extraído uma quantidade de celobiose e arabinose muito superior ao que se esperava (Tab. 6), nos quais os valores de celobiose e arabinose não deveriam passar de 2,01 e 2,07% (do bagaço de cana *in natura*), respectivamente. A grande quantidade extraída de cada um não era esperada, uma vez que o objetivo é a extração de glicose (e não celobiose).

A hidrólise AD das polpas tratadas com NaOH 10% apresentou rendimento em açúcares dentro do esperado, a não ser pelo fato da grande produção de celobiose. Assim como no tratamento anterior, a celobiose (2 unidades de glicose) foi encontrada devido à quebra ineficiente da cadeia celulósica, produzindo esse componente em quantidade maior que a esperada. Houve ainda um rendimento satisfatório em glicose e arabinose e pobre em xilose.

A hidrólise AD das polpas tratadas com NaOH 20% apresentou os piores valores de recuperação de açúcares, fato compreensível devido à severidade do pré-tratamento alcalino aplicado. Com a hidrólise de uma considerável parcela da

hemicelulose e celulose durante o pré-tratamento, evidenciada pela grande redução na massa do bagaço pós-tratamento, o baixo rendimento em glicose, xilose e arabinose era esperados. A extração de celobiose nesse caso manteve o mesmo padrão: a grande quantidade obtida ao final da hidrólise. Da mesma forma, houve a quebra ineficiente das ligações entre os monômeros, resultando em uma quantidade grande de celobiose.

A concentração de ácido utilizada na hidrólise AD foi pequena frente a outros experimentos descritos na literatura. Acredita-se que a pequena quantidade de ácido potencialmente ativo para a hidrólise tenha influenciado nos resultados de quebra dos açúcares, uma vez que sua quantidade não foi suficiente para quebrar a determinada quantidade de polpa.

Comparativamente, as duas metodologias mostraram resultados um pouco diferentes. A primeira evidencia que a concentração de ácido está diretamente ligada à quantidade de açúcares obtidos. No entanto, a concentração não pode exceder certo limite, pois assim favoreceria a formação de produtos de degradação de açúcares, que são indesejados na etapa de fermentação. A segunda metodologia evidenciou que o ácido diluído, dependendo das condições de diluição, é eficaz na quebra da celulose e hemicelulose. Dependendo da concentração do ácido, haverá maior ou menor hidrólise dos componentes e, nesse caso, com baixa formação de compostos de degradação. Ajustes nas metodologias devem ser feitos para que se possa obter um maior rendimento de extração dos açúcares. Alguns fatores como temperatura, pressão e concentração dos reagentes são fatores fundamentais e que influenciam o processo.

4.3. AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS NÃO IDENTIFICADOS

A análise cromatográfica varreu a amostra em busca de açúcares (glicose, celobiose, xilose, arabinose) e ácidos orgânicos (ácido glucurônico, ácido fórmico e ácido acético). Os compostos foram identificados de acordo com seu tempo de retenção na coluna. A seguir, nas Tabs. (15) e (16), são mostrados os tempos de retenção dos compostos de cada amostra para os dois tipos de hidrólise.

Tabela 15- Áreas associadas aos picos obtidos nos cromatogramas das amostras de hidrólise AC.

Amostra	Tempo de retenção (min)	Área associada	Percentual total do cromatograma (%)
Polpa tratada com NaOH 1%	6,382	15670409	66,15
	6,548	7545390	31,85
	7,382	251078,125	1,06
	8,798	45069,664	0,19
	9,448	137815,234	0,58
	10,315	31496,168	0,13
	13,215	260,7	0,001
Polpa tratada com NaOH 10%	6,382	24525270	66,22
	6,798	11833815	31,95
	8,815	344550,5	0,93
	9,432	156374,313	0,42
	10,315	148364,625	0,40
	13,465	12500,657	0,034
Polpa tratada com NaOH 20%	6,382	18250388	67,25
	6,632	8514489	31,37
	7,365	182449,422	0,67
	8,815	66269,438	0,24
	9,448	53296,902	0,20
	10,332	57459,441	0,21

Tabela 16 - Áreas associadas aos picos obtidos nos cromatogramas das amostras de hidrólise AD.

Amostra	Tempo de retenção (min)	Área associada	Percentual total do cromatograma (%)
Polpa tratada com NaOH 1%	6,390	14732267	65,30
	6,532	7328364,5	32,48
	7,382	250645,391	1,11
	8,798	161039,109	0,71

	9,432	56917,609	0,25
	10,315	18591,996	0,08
	13,415	3638	0,02
Polpa tratada com NaOH 10%	6,215	7189,8	5,65
	7,382	22265,150	17,51
	8,815	82981,156	65,26
	9,415	4329,040	3,40
	10,315	1680,2	1,32
Polpa tratada com NaOH 20%	6,190	3857791,750	97,23
	7,357	76876,898	1,94
	8,807	22529,660	0,57
	9,457	6920,266	0,17
	10,357	3537,642	0,09

Analisando os números dos cromatogramas apresentados nas Tabs. (15) e (16) percebe-se que entre 6 e 7 minutos há a maior parte dos compostos identificados pelo equipamento. Mais de 90% de todas as áreas dos picos pertencem a esses compostos não identificados. Sluiter *et al.* (2008b) relata em sua metodologia que o aparecimento desses picos antes do pico da celobiose (7,3 minutos) pode indicar a presença de possíveis produtos de degradação de açúcares, evidenciando que a hidrólise "passou do ponto". Nesse caso, o autor propõe que a análise de CLAE deve ser feita sempre com amostras bem frescas para que não haja a possibilidade de degradação dos açúcares. Outros autores também discutiram esses picos de compostos desconhecidos em seus trabalhos (AGBLEVOR *et al.*, 2007; SCHWALD *et al.*, 1985; VORAGEN *et al.*, 1986). Eles relatam que a existência desses picos pode ser devido à existência de oligômeros (grandes fragmentos de celulose e hemicelulose não quebrados completamente pela hidrólise) residuais, evidenciando uma grande quantidade deles nas amostras analisadas, indicando que a hidrólise não foi eficiente em quebrar a cadeia celulósica em seus açúcares constituintes.

5. CONCLUSÃO

A hidrólise ácida de biomassas é um método amplamente difundido na literatura. Vários resultados comprovam que esse método é eficaz na quebra das ligações glicosídicas da cadeia celulósica. O presente trabalho estudou dois tipos de hidrólise ácida: concentrada e diluída. A hidrólise ácida concentrada apresentou resultados quantitativamente melhores que os da hidrólise ácida diluída. A maior recuperação de açúcares ocorreu na hidrólise utilizando polpa tratada com NaOH 10%. A hidrólise ácida diluída apresentou resultados a quem do esperado. Devido à pequena concentração do ácido, houve pouca quebra da cadeia celulósica, sendo que a celobiose foi o composto que mais ocorreu nos três casos. A maior recuperação de açúcares ocorreu na hidrólise utilizando polpa tratada com NaOH 1%.

O pré-tratamento alcalino é um importante método de deslignificação da biomassa. O método é utilizado para remover parte da lignina e remover os impedimentos estruturais à hidrólise da celulose. No trabalho, o pré-tratamento alcalino focou em remover a lignina do bagaço de cana. O estudo das polpas resultantes do procedimento revelou que um pré-tratamento alcalino intermediário é mais conveniente que um muito brando ou um vigoroso. O pré-tratamento que apresentou os melhores resultados foi o que utilizou NaOH 10%.

A utilização de sequência de tratamentos é útil quando se deseja obter o que há de melhor em cada etapa. No caso, deseja-se promover uma efetiva deslignificação e remoção parcial de hemicelulose e também promover a quebra efetiva da cadeia celulósica objetivando a recuperação de glicose para fermentação a etanol. Seis diferentes sequências foram avaliadas. Dentre elas, a sequência que se mostrou mais rentável, do ponto de vista quantitativo, foi a que pré-trata o bagaço com NaOH 10% e a hidrólise que utiliza ácido concentrado. Nessa sequência obteve-se a maior quantidade de açúcares comparada às outras sequências estudadas, obtendo 8,62% de glicose, 3,68% de xilose e 3,13% da arabinose disponível. Do ponto de vista qualitativo, a sequência que se mostrou mais promissora foi a que pré-trata o bagaço com NaOH 1% e a hidrólise que utiliza ácido diluído. Nessa sequência obteve-se a maior quebra de cada componente: 13,42% de glicose, 4,46% de xilose e 1,27% de arabinose.

6. PROPOSTAS PARA MELHORIA DO TRABALHO

O método estudado pode ser melhorado com um estudo mais detalhado dos compostos de degradação gerados a partir do pré-tratamento alcalino e da hidrólise ácida. Além disso, a alguns ajustes devem ser feitos em cada metodologia para alcançar rendimentos maiores:

- Na hidrólise com ácido diluído a concentração deve ser ajustada para cerca de 1% m/v, valor satisfatório para que as reações ocorram com baixa concentração de ácido e também por ser uma concentração muito trabalhada na literatura;
- Na hidrólise com ácido diluído a temperatura e o tempo de reação devem ser alterados a fim de atingir um ponto ótimo de extração de açúcares: elevar a temperatura e diminuir o tempo de reação;
- Na hidrólise com ácido concentrado deve-se alterar o tempo de reação e a temperatura para valores mais brandos e maiores, respectivamente;
- No pré-tratamento alcalino a temperatura da reação deve ser menor que a trabalhada e o tempo de reação maior a fim de garantir um tratamento com rendimento satisfatório;

Aplicando as alterações propostas, a sequência utilizando os dois tratamentos estudados é promissora e pode elevar o rendimento em açúcares, comparada à que foi estudada.

7. REFERÊNCIAS

- AGBLEVOR, F. A., HAMES, B. R., SCHELL, D., CHUM, H. L., **Analysis of biomass sugars using a novel HPLC method**, Applied Biochemistry and Biotechnology 136, p. 309-326, 2007.
- ALVES, L. A., FELIPE, M. G. A., SILVA, J. B. A. E., SILVA, S. S., PRATA, A. M. R., **Pretreatment of sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii***, Applied Biochemistry and Biotechnology, Vol.70-72, p.89-98, 1998.
- ALVIRA, P., TOMÁS-PEJÓ, R., BALLESTEROS, M., NEGRO, M. J., **Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review**, Bioresource Technology 101, p.4851-4861, 2010.
- BALAT, M., BALAT, H., ÖZ, C., **Progress in bioethanol processing**, Progress in Energy and Combustion Science 34, p. 551-573, 2008.
- BALAT, M., **Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review**, Energy Conversion and Management 52, p.858-975, 2011.
- BANERJEE, N., BHATNAGAR, R., VISWANATHAN, L. **Inhibition of glycolysis by furfural in *Saccharomyces cerevisiae***, European J Appl Microbiol Biotechnol 11, p. 226-228, 1981.
- BETANCUR, G. J. V., PEREIRA JR., N., **Sugar cane bagasse as feedstock for second generation ethanol production. Part I: Diluted acid pretreatment optimization**, Journal of Biotechnology, vol. 13, n. 3, p.1-9, 2010.
- BHATTACHARYA, D., GERMINARIO, L. T., WINTER, W. T., **Isolation, preparation and characterization of cellulose microfibrils obtained from bagasse**, Carbohydrate Polymers 73, p. 371-377, 2008.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, **Produção Brasileira de Cana-de-açúcar, Açúcar e Etanol**, Departamento da Cana-de-açúcar e Agroenergia, 2013.
- BRIENZO, M., **Extração de hemicelulose do bagaço de cana-de-açúcar para produção de xiloligossacarídeos**, 137 f., Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2010.
- CANILHA, L., SANTOS, V. T. O., ROCHA, G. J. M., ALMEIDA E SILVA, J. B., GIULIETTI, M., SILVA, S. S., FELIPE, M. G. A., FERRAZ, A., MILAGRES, A. M. F., CARVALHO, W., **A study on the pretreatment of a sugarcane bagasse sample with dilute sulfuric acid**, J Ind Microbiol Biotechnol 38, p. 1467-1475, 2011.
- CHEN, W., TU, Y., SHEEN, H., **Disruption of sugarcane bagasse lignocellulosic structure by means of dilute sulfuric acid pretreatment with microwave-assisted heating**, Applied Energy 88, p.2726-2734, 2011.
- CHRISTOFOLETTI, G. B., **Estudo dos efeitos das etapas de pré-tratamento na hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar**, 145 f., Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia dos Materiais) – Instituto de Química de São Carlos, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento, **A geração termoeletrica com a queima do bagaço de cana-de-açúcar no Brasil: Análise do desempenho da safra 2009/2010**, Diretoria de Política Agrícola e Informações, 2011.
- CORTEZ, L. A. B., **Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade**, São Paulo: Blucher, 2010. 954 p.
- DA SILVA, V. F. N., **Estudos de pré-tratamento e sacarificação enzimática de resíduos agroindustriais como etapas no processo de obtenção de etanol celulósico**, 116 f., Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial), Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2009.
- DELGENES, J. P., MOLETTA, R., NAVARRO, J. M., **Effects of lignocellulose degradation products on ethanol fermentations of glucose and xylose by *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis*, *Pichia stipitis*, and *Candida shehatae***, Enzyme and Microbial Technology 19, p. 220-225, 1996.
- DE PAULA, M. P., **Hidrólise ácida de polpa de sisal: características do processo heterogêneo e estudo das reações correlatas**, Dissertação (Mestrado em Ciências – Físico-Química), Instituto de

- Química de São Carlos, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.
- DIAS, M. O. S., CUNHA, M. P., JESUS, C. D. F., ROCHA, G. J. M., PRADELLA, J. G. C., ROSELL, C. E. V., MACIEL FILHO, R., BONOMI, A., **Second generation ethanol in Brazil: Can it compete with electricity production?**, Bioresource Technology 102, p. 8964-8971, 2011.
- DIAS, M. O. S., JUNQUEIRA, T. L., CAVALETT, O., CUNHA, M. P., JESUS, C. D. F., ROSELL, C. E. V., MACIEL FILHO, R., BONOMI, A., **Integrated versus stand-alone second generation ethanol production from sugarcane bagasse and trash**, Bioresource Technology 103, p. 152-161, 2012.
- FENGEL, D.; WEGENER, G., **Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions**. New York: Walter de Gruyter, 1989. 613 p.
- GOUVEIA, E. R., NASCIMENTO, R. T., SOUTO-MAIOR, A. M., **Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar**, Quim. Nova, vol. 32, n. 6, p. 1500-1503, 2009.
- GOMIDE, J. L., OLIVEIRA, R. C., COLODETTE, J. L., **Produção de polpa Kraft de eucalipto, com adição de antraquinona**, Revista Árvore, vol. 4, nº 2, p.203-214, 1980.
- GUIMARÃES, J. L., FROLLINI, E., DA SILVA, C. G., WYPYCH, F., SATYANARAYANA, K. G., **Characterization of banana, sugarcane bagasse and sponge gourd fibers of Brazil**, Industrial Crops and Products 30, p. 407-415, 2009.
- GURGEL, L. V. A., **Hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar: estudo cinético de sacarificação de celulose para produção de etanol**, 315 f., Tese (Doutorado em Ciências – Físico-Química), Instituto de Química de São Carlos, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.
- KUMAR, P., BARRET, D. M., DELWICHE, M. J., STROEVE, P., **Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production**, Ind. Eng. Chem. Res., Vol. 48, 3713–3729, 2009.
- LIMAYEN, A., RICKE, S. C., **Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects**, Progress in Energy and Combustion Science 38, p.449-467, 2012.
- LIU, C. F., SUN, R. C., ZHANG, A. P., REN, J. L., GENG, Z. C., **Structural and thermal characterization of sugarcane bagasse cellulose succinates prepared in ionic liquid**, Polymer Degradation and Stability 91, p. 3040-3047, 2006.
- LURII, V. G., **Comparative Results of the Combustion of Lignin Briquettes and Black Coal**, Solid Fuel Chemistry, Vol. 42, No. 6, pp. 342–348, 2008.
- LUZ, S. M., **Estudo das propriedades mecânicas, interface e morfologia de compósitos de polipropileno reforçados com fibras de bagaço e palha de cana**, 153 f., Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial), Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2008.
- MILEO, P. C., **Aplicações da celulose de palha de cana-de-açúcar: obtenção de derivados partindo de celulose branqueada e de biocompósitos com poliuretana obtida a partir de óleo de mamona (*Ricinus communis* L.)**, 114 f., Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial), Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2011.
- PALMQVIST, E., HAHN-HÄGERDAL, B., **Fermentation of lignocellulosic hydrolysate. I: inhibition and detoxification**, Bioresource Technology 74, p. 17-24, 2000a.
- PALMQVIST, E., HAHN-HÄGERDAL, B., **Fermentation of lignocellulosic hydrolysate. II: inhibitors and mechanisms of inhibition**, Bioresource Technology 74, p. 25-33, 2000b.
- PANDEY, A., SOCCOL, C. R., NIGAM, P., SOCCOL, V. T., **Biotechnological potential of agro-industrial residues. I: sugarcane bagasse**, Bioresource Technology 74, p. 69-80, 2000.
- PARAJÓ, J. C., DOMÍNGUEZ, H., DOMÍNGUEZ, J. M., **Charcoal adsorption of Wood hydrolysate for improving their fermentability: influence of the operational conditions**, Bioresource Technology 57, p. 179-185, 1996.
- PITARELO, A. P., **Avaliação da susceptibilidade do bagaço e da palha de cana-de-açúcar à bioconversão via pré-tratamento a vapor e hidrólise enzimática**, Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

- QUILHÓ, L. F. T. L., **Produção de Bioetanol a partir de Materiais Lenho-celulósicos de Sorgo Sacarino: Revisão Bibliográfica**, 88 f., Dissertação (Mestrado em Energia e Bioenergia), Faculdade de Ciência e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2011.
- ROCHA, G. J. M., MARTIN, C., SOARES, I. B., SOUTO MAIOR, A. M., BAUDEL, H. M., ABREU, C. A. M., **Dilute mixed-acid pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production**, *Biomass and Bioenergy* 35, p. 663-670, 2011.
- ROCHA, G. J. M., GONÇALVES, A. R., OLIVEIRA, B. R., OLIVARES, E. G., ROSSEL, C. E. V., **Steam explosion pretreatment reproduction and alkaline delignification reactions performed on a pilot scale with sugarcane bagasse for bioethanol production**, *Industrial Crops and Products* 35, p. 274-279, 2012.
- SAAD, M. B. W., **Avaliação Técnica e Econômica Preliminar da Produção de Etanol via Hidrólise Enzimática de Bagaço de Cana-de-açúcar**, 138 f., Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial), Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2010.
- SANCHEZ, B., BAUTISTA, J., **Effects of furfural and 5-hydroxymethylfurfural on the fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* and biomass production from *Candida guilliermondii***, *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 10, p. 315-318, 1988.
- SANTOS, J. R. A., GOUVEIA, E. R., **Produção de bioetanol de bagaço de cana-de-açúcar**, *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v.11, n.1, p.27-33, 2009.
- SCHWALD, W., CONCIN, R., BONN, G., BOBLETER, O., **Analysis of oligomeric and monomeric carbohydrates from hydrothermal degradation of cotton-waste materials using HPLC and GPC**, *Chromatographia* vol. 20 n.1, p. 35-40, 1985.
- SEABRA, J. E. A., MACEDO, I. C., **Comparative analysis for power generation and ethanol production from sugarcane residual biomass in Brazil**, *Energy Policy* 39, p. 421-428, 2011.
- SIGMA-AUDRICH, **Furfural**. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/185914?lang=pt®ion=BR>, Acessado em: 20/05/2014.
- SIGMA-AUDRICH, **5-(Hydroxymethyl)furfural**. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/w501808?lang=pt®ion=BR>, Acessado em 20/05/2014.
- SILVA, N. L. C., **Produção de bioetanol de segunda geração a partir de biomassa residual da indústria de celulose**, 123 f., Dissertação (Mestrado em Ciências – Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos), Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.
- SLUITER, A.D.; HAMES, B.R.; RUIZ, R.O.; SCARLATA, C.J.; SLUITER, J.B.; TEMPLETON, D.W. **Determination of Sugars, Byproducts, and Degradation Products in Liquid Fraction Process Samples: Laboratory Analytical Procedure (LAP)**. *NREL/TP-510-42623*. Golden, CO: National Renewable Energy Laboratory, 2008a.
- SLUITER, A.D.; HAMES, B.R.; RUIZ, R.O.; SCARLATA, C.; SLUITER, J.B.; TEMPLETON, D.W.; CROCKER, D., **Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP)**. *NREL/TP-510-42618*. Golden, CO: National Renewable Energy Laboratory, 2008b.
- SOCCOL, C. R., VANDENBERGHE, L. P. S., MEDEIROS, A. B. P., KARP, S. G., BUCKERIDGE, M., RAMOS, L. P., PITARELO, A. P., FERREIRA-LEITÃO, V., GOTTSCHALK, L. M. F., FERRARA, M. A., BOM, E. P. S., MORAES, L. M. P., ARAÚJO, J. A., TORRES, F. A. G., **Bioethanol from lignocelluloses: Status and perspectives in Brazil**, *Bioresource Technology* 101, p. 4820-4825, 2010.
- SUN, Y., CHENG, J., **Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review**, *Bioresource Technology* 83, p. 1-11, 2002.
- SUN, J. X., SUN, X. F., ZHAO, H., SUN, R. C., **Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse**, *Polymer Degradation and Stability*, Volume 84, Issue 2, p. 331-339, 2004a.
- SUN, J. X., SUN, X. F., SUN, R. C., SU, Y. Q., **Fractional extraction and structural characterization of sugarcane bagasse hemicelluloses**, *Carbohydrate Polymers* 56, p.195-204, 2004b.

- TAHERZADEH, M. J., EKLUND, R., GUSTAFSSON, L., NIKLASSON, C., LIDÉN, G., **Characterization and fermentation of dilute-acid hydrolysate from wood**, Ind. Eng. Chem Res. 36, p. 4659-4665, 1997.
- US DOE. May 2007. **Biofuels Primer Placemat: From Biomass to Cellulosic Ethanol and Understanding Biomass: Plant Cell Walls**, US Department of Energy Office of Science. Disponível em: <http://genomicscience.energy.gov/biofuels/placemat.shtml>. Acessado em: 20/05/2014.
- VERARDI, A., BARI, I., RICCA, E., CALABRÒ, V., **Hydrolysis of lignocellulosic biomass: current status of processes and technologies and future perspectives**, Bioethanol, p. 95-122, 2011.
- VORAGEN, A; G. JH., SCHOLS, H. A., SEARLE-VAN LEEUWEN, M. F., BELDMAN, G., ROMBOUTS, F. M., **Analysis of oligomeric and monomeric saccharides from enzymatically degraded polysaccharides by high-performance liquid chromatography**, Journal of Chromatography 370, p. 113-120, 1986.
- XU, J., CHENG, J. J., SHARMA-SHIVAPPA, R. R., BURNS, J. C., **Sodium hydroxide pretreatment of switchgrass for ethanol production**, Energy Fuels 24, p. 2113-2119, 2010.
- WIKANDARI, R., MILLATI, R., SYAMSIYAH, S., MURIANA, R., AYUNINGSIH, Y., **Effect of furfural, hydroxymethylfurfural and acetic acid on indigenous microbial isolate for bioethanol production**, Agricultural Journal, vol. 5, n. 2, p. 105-109, 2010.
- ZELEZNIK, F. J., **Thermodynamic properties of the aqueous sulfuric acid system to 350 K**, Journal of Physical and Chemical Reference Data, vol. 20, n. 6, p.1157-1199, 1991.
- ZHENG, Y., PAN, Z., ZHANG, R., **Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production**, Int J Agri&Biol Eng, Vol. 2 n°3, p.51-68, 2009.